

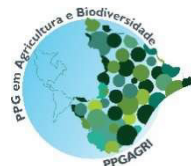


**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

**QUALIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE
Enterolobium contortisiliquum (VELL.) MORONG,
SUBMETIDAS AO ARMAZENAMENTO**

MARIA FERNANDA OLIVEIRA TORRES

2018



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E BIODIVERSIDADE**

MARIA FERNANDA OLIVEIRA TORRES

**QUALIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE
Enterolobium contortisiliquum (VELL.) MORONG,
SUBMETIDAS AO ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

Orientador: Prof. Dr. Robério Anastácio Ferreira
Co-Orientadora: Profa. Dra. Renata Silva-Mann

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL
2018

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

T693q Torres, Maria Fernanda Oliveira.
Qualidade física e fisiológica de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (VELL.) Morong, submetidas ao armazenamento / Maria Fernanda Oliveira Torres; orientador Robério Anastácio Ferreira. – São Cristóvão, 2018.
66 f.: il.

Dissertação (mestrado em Agricultura e Biodiversidade)–
Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Sementes - Fisiologia. 2. Diversidade biológica. 3.
Sementes – Armazenamento. I. Silva-Mann, Renata, orient. II.
Título.

CDU 631.531

MARIA FERNANDA OLIVEIRA TORRES

QUALIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Enterolobium contortisiliquum* (VELL.) MORONG, SUBMETIDAS AO ARMAZENAMENTO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agricultura e Biodiversidade, área de concentração em Agricultura e Biodiversidade, para obtenção do título de “Mestre em Ciências”.

APROVADA em 02 de fevereiro de 2018.

Prof. Dr. Renato Delmondez de Castro
UFBA

Profa. Dra. Renata Silva-Mann
UFS
Co-Orientadora

Prof. Dr. Robério Anastácio Ferreira
UFS
(Orientador)

SÃO CRISTÓVÃO
SERGIPE – BRASIL

*Àqueles por quem me tornei quem sou e por
quem dou minha vida... Aos meus pais e à
minha pequena Luiza...*
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pai todo poderoso, que me concedeu o dom da vida. Senhor, obrigado por ter me guiado pelos caminhos da vida, sem o seu amor eu nada seria. A ti, toda honra e toda glória. Obrigada!

À minha filha, Maria Luiza, luz da minha vida e razão dos meus maiores esforços, que por muitas vezes teve que conviver com minha ausência, atribuindo a si uma maturidade incomum a crianças da sua idade. Meu amor eu lhe juro que toda essa dedicação aos estudos é por um bem maior, o nosso futuro. Nunca duvide que tudo que mamãe faz é por você! Eu te amo!

Aos meus pais, Eduardo e Fátima, por acreditarem em mim, e me incentivarem a cada passo que dou. Meus amores, eu não tenho palavras suficientes para agradecer a tudo que fizeram e fazem por mim. Acreditem, muitas vezes, minha força e minha coragem reapareciam só de eu olhar para vocês e lembrar-me de tudo que passamos juntos. Então, quero que saibam que minhas vitórias são suas, e sem o amor de vocês eu não chegaria a lugar algum. Agradeço a Deus todo dia por ter vocês, em especial por minha filha ter vocês. Vocês são meu porto seguro. Meu eterno muito obrigado, pois devo tudo a vocês. Amo vocês!

Aos meus afilhados, Eduardo Neto e Rafael, ao mesmo tempo em que agradeço, peço-lhes desculpas, saibam que amo vocês e essa vitória é nossa!

À minha irmã e comadre, Maria Eduarda, pelo apoio e amor dado à nossa filha. Duda sem sua dedicação eu não teria conseguido. Você foi uma das escolhas mais certas que fiz na vida. Obrigada por cuidar com todo amor do bem mais precioso que Deus me deu, abdicando, muitas vezes, do seu próprio bem-estar, para que eu pudesse dar continuidade à minha pesquisa.

Agradeço também aos meus irmãos, Cleber e Maria Caroline. A vida nos fez diferentes, no entanto, é na hora da necessidade que conhecemos quem verdadeiramente está ao nosso lado. Vocês dois são aquelas pessoas com que sempre pude contar, e olhe que não foram poucas às vezes. Tenho certeza que essa fidelidade será eterna. Amo vocês!

À minha madrinha, por todo carinho, atenção e amor dado da maneira mais doce que só as mães de coração podem dar! Tia Cristina, você é luz, vida e força de vontade! Obrigada!

Ao meu namorado e amigo, Luan Rocha, pelo apoio, carinho, companheirismo, paciência e por tentar me entender nos momentos difíceis.

Aos meus orientadores, Professor Robério Anastácio Ferreira e Professora Renata Silva-Mann, pela oportunidade de crescer perante seus ensinamentos e se disponibilizarem a me ajudar sempre que solicitados. É imensurável o que aprendi com vocês. Vocês são a prova de que é possível ser profissional sem desmerecer ao próximo, ensinando que humildade é essencial para o desenvolvimento do ser humano. Gratidão é a palavra que define o que sinto por vocês neste momento, e aprendizado é o que vou levar de vocês por todo sempre. Muito obrigada!

Ao Professor Renato Delmondez de Castro por ter contribuído para a evolução deste trabalho.

Agradeço também a todos os amigos que fiz durante esses dois anos e às amigas que fortaleci, em especial a Rainan Déda, Olavo Marques, Valter Junior, Jéssica Sá e Jéssica Monalisa, Lucas, Juliana Lopes, Valdinete Vieira, Airan Miguel, Rayanne Andrade, Thays Sayanara, Jefferson Henrique, Michele Vasconcelos, Allana Melissa, Idamar, Kairon, Luciana Oliva e Lucas Perroni.

À Laura Catharine, amiga e parceira, que sem hesitar me ajudou na realização deste trabalho. Moça, obrigada de coração, você foi essencial nesse novo capítulo da minha vida.

Aos parceiros e colegas do GENAPLANT e LABSEM meus eternos agradecimentos, vocês facilitaram a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Sergipe e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade por me concederem a oportunidade e toda a estrutura para a realização desse sonho.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de mestrado.

Por fim, a toda minha família e àqueles que fizeram parte dessa etapa da minha vida, meus sinceros agradecimentos.

Feliz daquele que tem Deus, família e amigos!

Sumário

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE QUADROS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO GERAL	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1 Caracterização de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong	9
2.2 Armazenamento de sementes florestais	10
2.3 Conservação de Recursos Genéticos	13
2.4 Testes que auxiliam no monitoramento da viabilidade de sementes	15
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
4. ARTIGO 1	24
QUALIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES ARMAZENADAS DE <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (VELL.) MORONG	24
RESUMO	24
ABSTRACT	25
4.1 Introdução	26
4.2 Material e métodos	27
4.2.1 Obtenção dos frutos e caracterização dos municípios de coleta	27
4.2.3 Determinação da curva de embebição	29
4.2.4 Determinação do teor de água	30
4.2.5 Determinação da viabilidade e do vigor	30
4.2.6 Determinação da condutividade elétrica	30
4.2.7 Teste de Raios-X	31
4.2.8 Determinação da integridade e qualidade do RNA	31
4.2.9 Análises estatísticas	31
4.3 Resultados e discussão	32
4.3.1 Curva de embebição de sementes	32
4.3.2 Teor de água	34
4.3.5 Teste de Raios-X	43
4.3.4 Integridade e qualidade do RNA	49
4.4 Conclusões	51
4.6 Referências Bibliográficas	52
ANEXO I	58

LISTA DE FIGURAS

Figura

Página

1	Municípios de procedências das coletas de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong no estado de Sergipe, em relação à faixa de classificação climática proposta por Köppen. 1 – Santana do São Francisco; 2 – Aracaju; 3 – Capela; 4 – Lagarto; 5 – Moita Bonita.....	28
2	Comportamento de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong, quanto ao ganho de água, protrusão de radícula () e peso da semente () para dois lotes armazenados em câmara fria. A – lote com 9 anos (2008) e B – lote com 5 anos de armazenamento.....	33
3	Teor de água (%) de lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong.. com diferentes idades, armazenados em câmara fria.....	35
4	Desempenho de lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong, armazenados em câmara fria, quanto à viabilidade. A - Plântulas Normais; B - Emissão de radículas ao oitavo dia; C - Plântulas Anormais e D -. Sementes deterioradas.....	36
5	Porcentagem de emissão de radículas emitidas para 5 lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong armazenados em câmara fria.....	37
6	Tempo médio de germinação (Tmg) e coeficiente de uniformidade de germinação (Cug) dos lotes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong armazenadas em câmara fria.....	38
7	Germinação (%) acumulada dos diferentes lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong armazenados em câmara fria.....	39
8	Taxa de deterioração de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong para 3 lotes de sementes armazenados em câmara fria.....	40
9	Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong, armazenadas em câmara fria.	40

10	Condutividade elétrica (Ce) de lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong armazenados em câmara fria, submetidos a diferentes temperaturas de avaliação (25 e 40°C).....	41
11	Sementes de diferentes lotes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong categorizadas, por meio de radiografias. A – cheias; B e C - com danos; D - translúcidas, E - mal formadas e F - vazias.....	43
12	Qualidade do RNA dos diferentes lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong armazenados em câmara fria.....	50
13	Perfil eletroforético de RNA em gel de poliacrilamida de embriões dos lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong armazenados em câmara fria. A - 10 anos; B - 9 anos; C - 7 anos; D - 6 anos; E - 5 anos e F - 1 ano.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1	Procedência, localização e precipitação pluviométrica dos municípios sergipanos e respectivos anos de coleta e tempos de armazenamento dos lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong..... 27
2	Teste de normalidade (W) de Shapiro-Wilk e seu valor de significância ($Pr < W$) para dados obtidos em análises de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong..... 32
3	Categorias de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong obtidas por meio de raios-X, de lotes armazenados em câmara fria, em comparação com o teste de germinação. PN – Plântulas normais; PA – Plântulas anormais; D – sementes deterioradas..... 44
4	Densidade média de pixels de lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong, obtidas a partir do softwer ImageJ. Densidade média de pixel geral do lote (D.M.PIX); Densidade média de pixel de sementes de lote - plântulas normais (D.M.P.PN); Densidade média em pixel de sementes - plântulas anormais (D.M.P.PA); Densidade média de pixel de sementes - deterioraram (D.M.P.D); D.P – Desvio Padrão..... 48
5	Relação entre idade e a densidade média de pixels geral dos lotes de sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong, expostas ao teste de raios-X, com dados obtidos a partir das mesmas sementes pelo teste de germinação. D.M.PIX – Densidade média de pixels do lote; %G – porcentagem de germinação; IVG – índice de velocidade de germinação; PF-peso fresco..... 49

LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong classificadas como cheias, obtidas no teste de raios-X e analisadas através do softwer ImageJ.....	45
2	Sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong classificadas como mal formadas, obtidas no teste de raios-X e analisadas através do softwer ImageJ.....	45
3	Sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong classificadas em sementes com danos cheias, obtidas no teste de raios-X e analisadas através do softwer ImageJ.....	46
4	Sementes de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong classificadas em sementes com translúcidas e vazias, obtidas no teste de raios-X e analisadas através do softwer ImageJ.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

APP	Área de Preservação Permanente
BOD	Biochemical Oxygen Demand (demanda bioquímica de oxigênio)
Ce	Condutividade elétrica
CENARGEM	Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia
D	Sementes deterioradas
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio padrão
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ER	Emissão de radícula
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)
IPEF	Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais
IPGRI	International Plant Genetic Resources Institute
IVG	Índice de velocidade de germinação.
PF	Peso fresco
PA	Plântulas anormais
PN	Plântulas normais
RNA	Ácido ribonucléico

RESUMO

TORRES, Maria Fernanda Oliveira. **Qualidade física e fisiológica de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, submetidas ao armazenamento.** São Cristóvão: UFS, 2018. 66p. (Dissertação – Mestrado em Agricultura e Biodiversidade).*

A qualidade fisiológica de sementes é de fundamental importância, uma vez que estas são passíveis de deteriorarem-se durante o armazenamento. No entanto, existem técnicas de conservação capazes de minimizar a deterioração. O armazenamento é uma alternativa para a conservação da biodiversidade vegetal, pois, se realizado de maneira adequada, pode manter a viabilidade e o vigor das sementes. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade física e fisiológica de seis lotes de sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong) armazenados por diferentes períodos em câmara fria. Para as avaliações, determinaram-se as curvas de embebição, o teor de água, a viabilidade e o vigor das sementes, a integridade das sementes por meio de Raios-X e a quantidade e qualidade do RNA. A qualidade fisiológica foi determinada avaliando-se as porcentagens de emissão de radícula, de plântulas normais e anormais, o índice de velocidade de germinação (IVG) e o percentual de sementes deterioradas. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey e Scott-Knott a 5%. Através da curva de embebição observou-se que a 1ª e 2ª fase desta difere do padrão trifásico comum. O teor de água das sementes variou de 4,6 a 16,01%. Observou-se que o lote armazenado por 10 anos (2007) apresentou 83% de emissão de radícula e 38% de plântulas normais. Os lotes com 1 e 5 anos de armazenamento demonstraram comportamento germinativo semelhante entre si e os maiores valores de IVG, sendo eles estatisticamente superiores aos demais. Por meio do teste de Raios-X foi possível identificar e quantificar as sementes cheias, as sementes com danos, as sementes mal formadas, as sementes translúcidas e vazias. Os lotes armazenados por 1, 5, 9 e 10 anos apresentaram percentuais de 78, 82, 42 e 38% de plântulas normais, enquanto os lotes com 6 e 7 anos apresentaram 0 e 6%, respectivamente. É possível armazenar sementes de tamboril por até dez anos, sob as condições estudadas. No entanto, é necessário se ater às condições de armazenamento, ou ao teor de água inicial das sementes. Recomenda-se que sementes de tamboril sejam armazenadas com teor de água menor ou igual a 6%.

Palavras - chave: Conservação de biodiversidade, Vigor, Viabilidade, Raios - X, Tamboril

* Comitê Orientador: Robério Anastácio Ferreira – UFS (Orientador), Renata Silva-Mann – UFS (Co-Orientadora).

ABSTRACT

TORRES, Maria Fernanda Oliveira. **Physical and Physiological Qualities of the Stored Seeds of *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong**. São Cristóvão: UFS, 2018. 66p.. (Dissertation - Master in Agriculture and Biodiversity).*

The physiological quality of seeds is of fundamental importance, since they are liable to deteriorate during storage. However, there are conservation techniques that can minimize this deterioration. Seed storage is an alternative method for the conservation of plant biodiversity, since if it is carried out in an adequate way, it can maintain the viability and the vigor of the seeds. The present work was carried out with the objective of evaluating the physical and the physiological qualities of six lots of *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong seeds that were stored for different periods in cold rooms. For the evaluations, their imbibition curves, their water content, their seed viability and vigor, their seed integrity by X-rays and the amount and the dissimilar qualities of their RNA were all determined. Their physiological qualities were determined by evaluating their percentages of radicle emissions, quantifying the normal and abnormal seedlings, measuring their speed germination index (SGI), as well as appraising the percentages of the deteriorated seeds. The results were submitted to an analysis of variance and the means were compared by Tukey's test and Scott-Knott's test at 5%. Through the embedded curves, it was observed that the 1st and 2nd phases differed from the common three-phase pattern. The water content of the seeds ranged from 4.6% to 16.01%. It was observed that the lot that was stored for 10 years (2007) presented an 83% emission of radicles, together with 38% of the normal seedlings. The lots that were stored for 1 and 5 years showed a similar germinative behavior among themselves, with the highest values of SGI being statistically superior to the other lots. By means of the X-ray tests, it was possible to identify and to quantify the filled, damage, malformed, translucent and empty seeds. The lots that were stored for 1, 5, 9 and 10 years presented percentages of 78%, 82%, 42% and 38% of normal seedlings, while the lots for 6 and 7 years presented 0% and 6%, respectively. It was possible to store the seeds for up to ten years, under the conditions that were studied. However, it was very necessary to consider the storage conditions, as well as the initial water content of the seeds. It is to be recommended that *Enterolobium contortisiliquum* seeds should be stored with a water content of less than or equal to 6%.

Key-words: biodiversity conservation, vigor, viability, x-rays, tamboril.

* Supervising Committee: Robério Anastácio Ferreira – UFS (Advisor), Renata Silva-Mann – UFS (Co-Advisor).

1. INTRODUÇÃO GERAL

Em meio a grandes perdas da biodiversidade, a necessidade de se conservar florestas tem intensificado o surgimento de programas de recuperação de áreas degradadas. Estes programas tendem a proporcionar o enriquecimento vegetal dessas áreas por meio da implantação das espécies via semeadura direta ou plantio de mudas, aumentando-se, assim, a demanda por sementes. Porém, as dificuldades relacionadas à obtenção e disponibilidade de sementes de espécies nativas têm influenciado no sucesso desses programas.

Um dos pressupostos para o sucesso em programas de recuperação/restauração de áreas degradadas é a obtenção de sementes com boa qualidade genética, fisiológica e física. Deve-se compreender que esta qualidade influencia diretamente na quantidade de plântulas emergidas em campo e na quantidade de mudas produzidas em viveiros. Além da obtenção de sementes de boa qualidade, faz-se necessário mantê-las em condições ideais até a sua utilização, sendo o armazenamento uma das alternativas para conservá-las.

O armazenamento de sementes surge como uma boa estratégia de conservação *ex situ*, com o intuito de fornecer esses recursos genéticos em diferentes épocas, favorecendo o sucesso de programas de recuperação de áreas degradadas e estudos de melhoramento genético. Esta estratégia consiste em guardar as sementes sob condições especiais, tendo como objetivo principal manter a qualidade das mesmas e suprir demandas do mercado ou para uso na recuperação/restauração ambiental. É essencial nesta condição que as sementes sejam longevas.

A longevidade das sementes é compreendida pelo tempo de vida das mesmas que pode ser comprometida caso estas não tenham atingido a maturidade fisiológica na época da colheita. É após atingir seu ponto de maturidade fisiológica que se entende que a semente alcançou sua máxima viabilidade e seu máximo vigor. No entanto, é neste ponto que também se inicia a progressiva perda destas características devido ao processo de deterioração. Este processo é inevitável, mas pode ser retardado diante do uso de técnicas de armazenamento, uma vez que estas proporcionam a redução da atividade metabólica das sementes e, consequentemente, a minimização dos seus efeitos. Logo, estudos que possibilitem o entendimento do comportamento e exigências das sementes durante o armazenamento são de suma importância.

O potencial fisiológico das sementes pode ser afetado por diversos fatores durante o armazenamento, dentre eles estão a umidade relativa do ar e a temperatura do ambiente. Estes, quando não controlados podem elevar os teores de água nas sementes e promover o aumento da sua atividade metabólica, causar o envelhecimento precoce e, posteriormente, a sua morte.

A resposta da manutenção da viabilidade e do vigor durante o armazenamento varia entre as espécies, principalmente porque a qualidade está diretamente relacionada à capacidade de tolerar a perda de água. Então, é necessário conhecer as limitações das espécies quanto ao seu comportamento, mediante as condições de armazenamento.

O tamboril [*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong] é uma espécie florestal, nativa do Estado de Sergipe, pertencente à família das Fabaceae - Mimosoideae e inclusa no grupo sucessional clímax exigente de luz (OLIVEIRA-FILHO et al., 1995). Sua importância está relacionada com a capacidade de se desenvolver em áreas perturbadas e de proporcionar boas condições no ambiente para o desenvolvimento de outras espécies, sendo esta promotora da recuperação de áreas florestais. Esta espécie apresenta sementes de comportamento ortodoxo, ou seja, toleram a dessecação e suportam armazenamento sob baixas temperaturas (ARAUJO e SOBRINHO, 2011; SCALON et al., 2005).

Na literatura tem sido descrito que as sementes de tamboril, sob condições de armazenamento com baixas temperaturas, se mantêm viáveis por até 9 anos (SCALON et al., 2005). Porém, essas condições podem variar, uma vez que a produção das sementes está

relacionada com a área de procedência, com as condições em que as sementes foram produzidas e, conseqüentemente, com as condições de como foram armazenadas.

Em Sergipe, a ocorrência desta espécie pode ser observada nos remanescentes florestais, e estudos sobre a produção e qualidade de suas sementes ainda são escassos. No entanto, é importante verificar, por meio de testes que analisem a sua qualidade fisiológica e física, se estas apresentam potencial para o armazenamento por longos períodos.

Visando obter essas informações e conservar recursos genéticos para posterior produção de mudas, as sementes de espécies arbóreas nativas têm sido conservadas em condições de câmara fria e úmida pelo Grupo Restauração na Universidade Federal de Sergipe (UFS) desde o ano de 2004, pois, segundo relatos na literatura, estas condições proporcionam a conservação da longevidade das sementes, mantendo-as disponíveis para futuras utilizações (OLIVEIRA-BENTO et al., 2015; NASCIMENTO et al., 2015; DARLI et al., 2018). Este grupo, em parceria com instituições públicas e privadas, faz parte de um programa de conservação de germoplasma vegetal que visa à recuperação de áreas degradadas, principalmente em Área de Preservação Permanente (APP). Portanto, trabalhos que monitorem a longevidade e a viabilidade destas sementes armazenadas são extremamente relevantes.

Diante da necessidade de se conhecer o comportamento de sementes de tamboril [*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong] produzidas no Estado de Sergipe e submetidas ao armazenamento em câmara fria por períodos de até dez anos, foram realizados testes visando determinar a qualidade fisiológica (viabilidade e vigor), a qualidade física e a integridade molecular em nível de RNA.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Caracterização de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong

Enterolobium contortisiliquum (Vell.) Morong é uma espécie pertencente à família das Fabaceae, subfamília Mimosoideae, popularmente conhecida como tamboril, orelha-de-negro, timbaúba e orelha-de-macaco, dentre outras denominações.

A árvore possui folhas alternas espiraladas, estipuladas, compostas bipinadas, com flores brancas dispostas em umbelas axilares, formando uma copa ampla e frondosa. O fruto é do tipo vagem, de coloração negra e contorcido. É polispérmico, indeiscente e com sementes duras (LORENZI, 2008). As sementes são esternospérmicas, glabras, achatadas e oblongas, com coloração marrom-escuro e funículo persistente (BARRETTO e FERREIRA, 2011). O tegumento é coriáceo e bem espesso formado por uma camada paliádica na região da exotesta; este é constituído por um baixo teor de lignina na região parenquimática da mesotesta, sendo esta uma das possíveis causas da dormência tegumentar desta espécie (COSTA et al., 2011). Essas características assemelham-se àquelas que são comumente observadas em espécies com sementes ortodoxas, ou seja, aquelas que toleram dessecação e, conseqüentemente, podem ser armazenadas.

No Brasil, o *E. contortisiliquum* pode ser encontrado em formações de florestas do Cerrado, do Brasil Central, em áreas de Mata Atlântica e Caatinga (LIMA et al., 2010). A depender da região de ocorrência, suas árvores começam a florescer a partir de meados de agosto, prolongando-se até janeiro e a maturação dos frutos ocorre durante os meses de maio até outubro. Entretanto, permanecem na planta-mãe por mais alguns meses até que caíam (IPEF, 2018). A coleta dos frutos pode ser feita no chão quando caem da árvore, próximo à mesma, ou diretamente nas árvores, o que pode garantir uma maior qualidade sanitária das sementes (SENA e GARIGLIO, 2008).

A espécie é classificada com clímax e exigente de luz. Ela apresenta grande importância na formação de florestas, em especial, na Mata Atlântica, pois é muito utilizada em projetos de reflorestamento por meio de plantio de mudas, ou em menor escala por semeadura direta, devido ao seu rápido desenvolvimento inicial (ARAÚJO e SOBRINHO, 2011). É colonizadora de áreas desmatadas, em clareiras e bordas de matas (SANT'ANA et al., 2013). Esta espécie assume também importância em vários setores da economia, como o madeireiro, na construção civil, construção naval e, também com fins paisagísticos (CARVALHO, 2003; ZUCHIWSCHI et al., 2010). Por possuir madeira leve, tem grande utilidade na fabricação de brinquedos, canoas e barcos de troco inteiro, compensados e armação de móveis, dentre outros usos (LORENZI, 2008).

Além dos usos listados, apresenta também propriedades químicas de interesse, tais como a presença de saponíneas triterpênicas (formadas de esqueleto com 30 carbonos, pentacíclicos), que atuam como detergentes e se comportam como substâncias tóxicas para alguns vertebrados, capazes de gerar quadro clínico e patológico de fotossensibilização hepatogênica e/ou até mesmo o aborto (LEAL et al., 2016). Uma dessas saponíneas é a enterolobiana, uma proteína vegetal formadora de poros, um tipo de citolisina encontrada em sementes, porém pouco se sabe sobre o seu papel, mas acredita-se que está relacionada com algum tipo de defensivo natural contra a predação das sementes (ARAÚJO e SOUZA, 2007).

Apesar de toda a sua importância ecológica e econômica, salienta-se que ainda são insuficientes os estudos contidos na literatura que comprovem o tempo máximo que as sementes desta espécie podem manter-se viáveis, quando conservadas em ambientes de armazenamento. Assim, com base na importância de conservação de espécies florestais pode-se enfatizar que estudos que visem avaliar a viabilidade de sementes de tamboril e, de maneira geral, das espécies ortodoxas durante o armazenamento, são de grande relevância. O planejamento de um estoque de sementes para comercialização ou conservação nos bancos de germoplasmas, para produção de mudas em viveiros e para uso destas em programas de recuperação de áreas degradadas ou restauração ecológica dependem de estudos que englobem também o comportamento de sementes mediante condições de armazenamento.

2.2 Armazenamento de sementes florestais

Diante do fortalecimento de políticas ambientais e da necessidade de se proteger os recursos florestais, as sementes se tornaram um meio de propagação de grande valia para programas de recuperação de áreas degradadas e conservação de ecossistemas. Sua qualidade fisiológica é determinante para que esses programas tenham o sucesso esperado, pois esta influencia na quantidade final de emergência de plântulas. Visto isto, sabe-se que o armazenamento consiste em uma estratégia fundamental de conservação *ex situ* capaz de preservar a qualidade das mesmas, mantendo-as viáveis por um maior período de tempo.

Ainda são escassos na literatura estudos sobre tecnologia de sementes de espécies nativas capazes de expressar seu comportamento mediante a longevidade e qualidade fisiológica, de acordo com condições que favorecerão a conservação (SILVA et al., 2014). Uma boa manutenção destes recursos, entre a época de colheita e a semeadura, é essencial para manter um alto padrão de qualidade fisiológica nas sementes (NASCIMENTO et al., 2010). Logo, a conservação da viabilidade das sementes por meio do armazenamento assume o papel promotor desse benefício. A qualidade fisiológica das sementes varia de espécie para espécie, uma vez que nem todas apresentam o mesmo comportamento em relação à capacidade de dessecar, característica fundamental perante os requisitos para o sucesso do armazenamento (NERY et al., 2014).

A tolerância à dessecação refere-se à capacidade de um organismo sobreviver a um extremo de desidratação e depois reidratar-se, dando continuidade ao seu desenvolvimento.

Portanto, conhecer a capacidade de tolerância à dessecação das sementes tem sido imprescindível para disponibilizar condições adequadas para a manutenção da viabilidade após a coleta. É ao final do processo de maturação que essa capacidade é adquirida. No entanto, existem diferenças entre as espécies em relação à tolerância a perder água e manter-se viável (BARBEDO et al., 2002; MAGISTRALI et al., 2013).

Com base nesta capacidade de tolerar ou não a perda de água, as espécies podem ser classificadas como recalcitrantes e ortodoxas (ROBERTS, 1973), e ainda, intermediárias (ELLIS et al., 1990). Segundo Roberts (1973), as recalcitrantes são aquelas sementes que não podem ser dessecadas a baixos níveis de umidade, sem que ocorram danos fisiológicos, bioquímicos e físicos e não podem ser armazenadas por longo período de tempo; as intermediárias toleram a desidratação até 7 a 10% de umidade e não toleram baixas temperaturas durante o período de tempo prolongado (ELLIS et al., 1990) e as ortodoxas são sementes que podem ser dessecadas sob níveis baixos de umidade (5 e 7%) e mantidas em ambientes de baixas temperaturas (ROBERTS, 1973). Estas condições permitem que os embriões das sementes ortodoxas permaneçam em estado de relativa inatividade devido à redução de atividade de reações químico-metabólicas, sendo possível a preservação do poder germinativo e do vigor por maior tempo (MARCOS FILHO, 2005; CALDAS, 2013).

Mediante isto e aos estudos contidos na literatura, comprovam-se que ambientes com baixa temperatura e umidade relativa do ar associada a embalagens adequadas proporcionam uma melhor condição de conservação para as sementes de comportamento ortodoxo (SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2011; NOBRE et al., 2013).

O armazenamento sob baixas temperaturas e baixa umidade relativa do ar pode ser realizado através de câmaras frias e de desumidificadores (HONG e ELLIS, 2003). A câmara fria consiste em um meio de armazenamento adequado para um grande volume de acessos, além de ser mais eficiente e econômica, em termos energéticos, do que a utilização de vários freezers para a mesma finalidade (LINGINGTON e MANGER, 2014). Este tipo de ambiente, quando configurado do tipo úmido, pode ocasionar alterações fisiológicas e estruturais menores nas sementes do que as configuradas do tipo secas (DAL RI et al., 2018).

Existem diversos tipos de embalagens capazes de promover a conservação por longos períodos, sendo elas classificadas em permeáveis, semipermeáveis e impermeáveis (AMARO et al., 2015; FELIX et al., 2017; NERY et al., 2016). Esta classificação está relacionada com a capacidade que as mesmas apresentam de realizar troca de umidade e oxigênio com o meio.

As embalagens permeáveis são conhecidas por permitirem que o material armazenado nelas realize trocas gasosas e troca de umidade com o ambiente. As embalagens mais conhecidas nesta categoria são papel, juta, algodão, plástico trançado (RIVERA, 2011). As embalagens semipermeáveis apresentam resistência às interações com a atmosfera, porém são passíveis de absorver da umidade (OLIVEIRA-BENTO et al., 2015). As impermeáveis, recipientes de alumínio e de vidro com boa vedação e sacos plásticos de polietileno seláveis ao calor, impedem que as sementes troquem umidade com o meio (MEDEIROS e EIRA, 2006;). As embalagens de plásticos, quando confeccionadas com polietileno de alta densidade e espessura, são classificadas como impermeáveis e promovem a conservação desses propágulos vegetativos. Estes evitam as interações entre o ambiente e a semente, proporcionando uma redução na atividade metabólica desta última e a estabilização do teor de água das sementes, sendo estas embalagens tidas como herméticas (CALDAS, 2013).

Dentre os fatores que apresentam maiores influências na conservação de sementes estão a umidade e a temperatura, assim, o controle destes aumenta a longevidade das sementes (RIVERA, 2011).

O teor de água em sementes é uma das características mais relevantes, pois quando é elevado, este consiste em um dos fatores favoráveis à deterioração das mesmas. A determinação de teores de água ideais para o armazenamento de sementes é essencial para o sucesso deste, pois sementes armazenadas com teores de água inadequados têm seu potencial de germinação reduzido (SMANIOTTO, 2014, FARIA et al., 2014). Sabe-se que as sementes

respondem de maneira diferente em relação a uma faixa ideal de perda de água, impondo uma grande variação da curva de dessecação entre as espécies, em que altos ou baixos níveis de água podem ocasionar a morte da semente (VICENTE et al., 2016; DE OLIVEIRA HOSSEL et al., 2018). O armazenamento com baixo teor de água para sementes ortodoxas promove a diminuição da respiração, do metabolismo e da ação de micro-organismos, garantindo a manutenção da longevidade destas, mas ainda são necessários estudos mais aprofundados sobre essa característica (MARCOS-FILHO, 2015; RESENDE et al., 2011).

Estudos que visem demonstrar o entendimento sobre ambientes, teor de água, umidade relativa do ar, temperaturas, embalagens adequadas e períodos de armazenamento vêm crescendo nos últimos tempos, pois por meio dessa estratégia é possível minimizar a velocidade do processo de deterioração de sementes, que por sua vez não pode ser evitado (CARDOSO et al., 2012).

O armazenamento de sementes em câmaras frias com a utilização de embalagens impermeáveis, como os sacos plásticos de polietileno, configura uma boa condição para algumas espécies, tais como *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand. e *Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl. [hoje denominada de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos] (BORBA FILHO e PEREZ, 2009), *Myracrodruon urundeuva* Fr. All (GUEDES et al., 2012) e *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp (SILVA et al., 2014). Em geral, sementes secas e mantidas em ambientes controlados, a exemplo de câmaras frias, constituem as melhores condições de armazenamento (baixa umidade e temperatura) utilizadas para favorecer a conservação e longevidade de sementes ortodoxas (VIEIRA et al., 2001; SOUZA et al., 2011; OLIVEIRA-BENTO et al., 2015).

A umidade relativa tem influência direta no teor de água das sementes e, quando associadas com altas temperaturas, aceleram o envelhecimento destas, acentuando sua deterioração (SILVA et al., 2008), pois a temperatura está interligada com a velocidade das reações químicas e a absorção de água. Então, o controle destes fatores auxilia em uma melhor conservação das sementes durante o armazenamento (MARCOS-FILHO, 2015).

Em sementes de *Jatropha curcas* L., foram observadas variações do teor de água quando comparados diferentes locais de armazenamento, pois, quando armazenadas em condições ambientes, estas apresentaram maior absorção de água e uma queda nas suas qualidades fisiológicas (CHAVES et al., 2012). Este acontecimento pode ser atribuído às características higroscópicas da semente e às variações de temperatura e umidade do ambiente.

Experimentos com sementes armazenadas em condições relativamente altas de umidade e temperatura, e monitoramento da sua viabilidade, têm demonstrado que a longevidade pode variar enormemente entre as diferentes espécies (PROBERT e HAY, 2009). Vale ressaltar que, para algumas espécies, o armazenamento ao longo do tempo e sob resfriamento age como fator positivo na germinação, pois auxilia no mecanismo de superação da dormência ou até mesmo permite que sementes imaturas atinjam seu ponto de maturidade fisiológica, mesmo após dispersadas pela planta mãe (CARVALHO et al., 2006).

O monitoramento da viabilidade de sementes, durante o armazenamento, pela remoção de amostras para se realizar o teste de germinação, é um aspecto essencial para o efetivo manejo de coleções de bancos de sementes. Para monitoramento da viabilidade de sementes, em bancos de germoplasma, existe a recomendação de avaliar a sua viabilidade a cada 5 ou 10 anos, para média e longa conservação, respectivamente (FAO/IPGRI, 1994).

Contudo, por ser um dos principais insumos de produção na silvicultura e agir como veículo de transferência de potencial genético das espécies, armazenar sementes consiste em um dos principais meios de facilitar a obtenção de sementes de essências florestais por diferentes épocas, dando assim, ênfase a importância de se estudar a conservação de recursos genéticos da melhor maneira.

2.3 Conservação de Recursos Genéticos

A Mata Atlântica é um dos biomas mais degradados do país e, diante de altos índices de espécies vegetais ameaçadas de extinção, estudos sobre conservação da biodiversidade são essenciais para a preservação do seu patrimônio genético. Em tempos de conscientização ambiental, o termo conservar florestas vem tomando força e uma das formas de manter vivos esses recursos florestais é pela conservação de recursos fitogenéticos.

A conservação das espécies pode ser feita de três modos, *in situ*, *on farm* e *ex situ*. Conservar *in situ* implica dizer que a espécie se encontra em seu ambiente ou habitat natural. A conservação *on farm* surge como potencializador da manutenção da agro biodiversidade, por ser uma subárea da conservação *ex situ*. Essa estratégia envolve recursos genéticos, como variedades crioulas em diferentes estados de domesticação, cultivados em campo por pequenos agricultores e populações indígenas. No entanto, seu grande diferencial está atrelado ao contínuo processo evolutivo das espécies na natureza, pois esses recursos fitogenéticos são conservados mediante exposição das constantes alterações edafoclimáticas (MMA, 2018). Na conservação *ex situ*, visa-se conservar a diversidade biológica ou genética das espécies fora do seu habitat natural. Esse tipo de estratégia utiliza técnicas promotoras de preservação como conservação *in vitro*, em campo (*on farm*), sob temperaturas negativas (-18 a -20°C) e técnicas de criopreservação (SALOMÃO, 2010). Neste caso, as principais áreas de infraestrutura de manutenção para tais técnicas de conservação são os denominados bancos de germoplasmas (BRASIL, 2000, FAO, 2017).

Os bancos de germoplasmas, quando bem administrados, atuam como potencializadores da conservação genética, pois em meio a uma atmosfera com diversas alterações climáticas e ambientais, a perda de diversidade genética gera grandes impactos negativos. Estes bancos ainda são capazes de fornecer recursos necessários para o melhoramento de culturas destinadas à alimentação, saúde e segurança nutricional (FAO, 2017).

Essas unidades de conservação de recursos genéticos foram classificadas como:

- Bancos ativos de germoplasma (BAGs) – coleção de amostradas de indivíduos propagados via clonagem ou não, com o intuito de manter a variação genética de uma população sob condições ambientes (CARVALHO et al., 2008).
- Coleção de trabalho – coleção de germoplasma de acessos válidos, com tamanho limitado, e mantidas para propósitos de melhoristas (COSTA et al., 2012);
- Coleção de campo – técnicas de conservação *on farm* (SALOMÃO, 2010);
- Coleção *in vitro* – utilização de técnicas de cultura de tecido (CARVALHO et al., 2008);
- Coleção em criopreservação – armazenamento sob temperaturas negativas através do congelamento de propágulos vegetativos via nitrogênio líquido (CARVALHO et al., 2008);
- Coleção nuclear - amostra representativa da coleção de base, visando manter a variabilidade genética desta última com o mínimo de redundância e facilitar o acesso de melhorias a esses recursos genéticos (ABADIE et al., 2000);
- Banco de base;

Os bancos de base visam à conservação por meio de propágulos vegetativos por longos prazos, com o intuito de minimizar perdas. As unidades de propágulos que são introduzidas em bancos de germoplasmas são denominadas de acessos e sua utilização é voltada à regeneração de bancos ativos de germoplasmas, programas de produção de mudas e reflorestamentos. Um exemplo de material biológico conservado nesses locais são as sementes (SALOMÃO, 2010; FARIAS e NEGREIROS, 2011; COSTA et al., 2012).

A semente consiste num dos principais meios de propagação de espécies florestais comportando-se como um meio eficiente de conservação da biodiversidade, pois é definida como unidade de reprodução sexuada das espécies vegetais. Diante disto, obtê-las com um alto padrão de qualidade fisiológica consiste no objetivo mais importante para programas de produção de mudas, que visam plantios comerciais, reflorestamentos e a conservação deste recurso genético, o que garante a importância das técnicas de armazenamento (MARQUES et al., 2014; POHL, 2014).

A conservação de sementes é influenciada por fatores extrínsecos (como época de colheita, beneficiamento, secagem e técnicas de armazenamento) e fatores intrínsecos, como a sua viabilidade, vigor e longevidade natural.

A longevidade é tida como o período de tempo em que a semente pode permanecer viva sob condições ambientais, o que é determinado pela interação entre suas características genéticas, morfofisiológicas e ambientais (MARQUES et al., 2014). Ou seja, toda semente é formada e possui tempo de vida programado devido às características genéticas, e este tempo pode ser influenciado pela qualidade inicial e condições de armazenamento.

O tempo de vida da semente pode ser mantido, respeitando-se o limite de cada espécie, por meio do armazenamento em condições especiais, ou pode ser reduzido se o armazenamento não apresentar condições adequadas para que as sementes permaneçam viáveis. A resposta ao tempo e à capacidade de armazenamento difere de espécie para espécie, sendo necessária a compreensão dos aspectos relacionados à tolerância à dessecação de sementes e ao armazenamento sob temperaturas baixas.

Mediante isto, pode-se dizer que a longevidade de sementes pode ser preservada mediante a redução do teor de água destas, da umidade do ambiente e da temperatura de armazenamento, sem sofrer danos severos (ROBERTS, 1973). A semente, quando seca, é capaz de resistir a impedimentos encontrados na natureza, como ausência de fatores essenciais para germinação, assumindo um estado de dormência ou quiescência e, quando sujeita a condições favoráveis para germinação, reassume sua atividade metabólica, seu crescimento e desenvolvimento (PESKE et al., 2006).

Sabe-se que sementes ortodoxas compõem o banco persistente de sementes do solo, pois, em sua maioria, são provenientes das espécies florestais pertencentes ao grupo ecológico sucessional das pioneiras (SWAINE e WHITMORE, 1988). Outra característica que as evidenciam como principal componente destes ambientes é a dormência tegumentar imposta a elas durante sua formação, sendo esta, a responsável por distribuir a germinação no tempo, em meio natural (CARVALHO et al., 2006; MORI et al., 2012; MARCOS-FILHO, 2015). No entanto, o armazenamento de sementes no solo proporciona uma maior perda fisiológica, pois estes recursos genéticos são expostos a variações em relação à umidade, temperatura, trocas gasosas e ação de micro-organismos (BARBÉRIO et al., 2014). Logo, se fez necessária a utilização de outras estratégias de armazenamento.

No Brasil, a Embrapa surge como referência na conservação *ex situ* devido à criação do Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN) e a introdução de câmaras frias (-20°C), capazes de armazenar sementes em longo prazo e de receber recursos genéticos de outros países, graças ao seu atual nível de capacitação profissional (SANTONIERI e BUSTAMANTE, 2016).

Em meio a grandes perdas da biodiversidade, estratégias de conservação são de suma importância para minimizar perdas genéticas, contribuindo para contínua perpetuação das espécies. O armazenamento de sementes consiste em uma estratégia de conservação *ex situ* e tem influência direta na qualidade fisiológica das mesmas. Então, se faz necessário um controle desta qualidade durante o armazenamento devido à crescente concorrência e imposição do mercado, visando obter informações sobre o comportamento das sementes armazenadas.

Testes ou análises rápidas, porém precisas em relação à qualidade de suas informações sobre o potencial fisiológico de sementes, são válidas na tomada de decisão nas diferentes

etapas do processo de produção, armazenamento e comercialização. O controle de qualidade envolve, dentre outras atividades, a avaliação da germinação e do vigor de sementes (FESSEL et al., 2010).

2.4 Testes que auxiliam no monitoramento da viabilidade de sementes

A diminuição na porcentagem de germinação, o aumento do número de plântulas anormais e a redução da velocidade de germinação e do vigor de plântulas são indicativos de perda da qualidade fisiológica das sementes. Essas alterações, que ocorrem ao longo do tempo de vida das sementes, podem ser constatadas por meio de testes de análise de sementes (BRASIL, 2009).

A análise de sementes tem como objetivo fornecer informações sobre a qualidade das mesmas, além de servir de guia aos agricultores, comerciantes e aos laboratórios oficiais de análise de semente e certificação. É por meio destes testes, sejam eles físicos, fisiológicos, sanitários e/ou genéticos que essas informações são geradas (BRASIL, 2009).

Entretanto, os procedimentos e resultados para avaliação da qualidade podem diferir, uma vez que nem sempre se tem um mesmo padrão de qualidade em sementes nativas colhidas, devido à falta de uniformidade no florescimento e maturação. Assim, o fato das populações de espécies nativas não estarem em condições de isolamento reprodutivo em áreas naturais, é necessário uma grande coleta de sementes nestas áreas, o que pode implicar em um recolhimento com vários estádios de maturidade entre as sementes colhidas. Isto pode causar problemas durante o processamento e pode limitar o número de sementes disponíveis de um mesmo lote para testes e distribuição (HAY e PROBERT, 2015). Toda semente apresenta um tempo de vida determinado por suas características genéticas, conhecido como longevidade, que é influenciada por seu potencial de viabilidade e vigor e, essas duas características podem ser comprometidas por diversos fatores, sendo o teor de água um deles (OLIVEIRA et al., 2011).

O teor de água das sementes interfere em vários aspectos de sua qualidade fisiológica, por isso conhecê-lo é fundamental. Isto é possível por meio de testes oficiais de determinação do grau de umidade (SARMENTO et al., 2015). Enquanto muitos protocolos sugerem a conservação de sementes ortodoxas com baixos teores de água e em baixa temperatura para aumentar a conservação, os níveis ótimos de conteúdo de água ainda são pouco explorados em espécies nativas. Estudos do ambiente ótimo para armazenamento são difíceis, pois requerem muito tempo, e as pesquisas, algumas vezes, usam testes de envelhecimento acelerado para realizar inferências sobre a manutenção da viabilidade durante o armazenamento (KONG et al., 2015).

Existem vários métodos de determinação do grau de umidade de sementes, porém o mais utilizado e oficial é o método em estufa a 105°C, onde as sementes são pesadas inicialmente e, em seguida, expostas à secagem por um período de 24 horas e pesadas posteriormente. A partir da diferença de peso, se determina, em porcentagem, o teor de água das sementes (BRASIL, 2009). No entanto, outros métodos, como determinação de umidade por infravermelho vêm se mostrando eficientes para obtenção desta estimativa (NASCIMENTO et al., 2017). Porém, outros testes também podem ser empregados para esta finalidade.

O teste de raios X consiste em um método rápido e não destrutivo que permite detectar sementes vazias, cheias e presença de danos internos, causados por insetos ou danos mecânicos (ISTA, 2004). Com isso, é possível melhorar a qualidade fisiológica dos lotes de sementes pelo descarte daquelas que apresentarem danos internos (CARVALHO et al., 2009).

Outra estimativa que se destaca é a determinação de curva de embebição/absorção de água em sementes. Esta auxilia na caracterização do processo germinativo, pois traz à tona o conhecimento sobre a duração de cada fase de embebição e expressa a quantidade necessária

que uma semente precisa para germinar (SMIDERLE et al., 2013). Essa estimativa auxilia nas decisões durante as etapas do processo produtivo, vindo a diminuir riscos e danos que podem ser ocasionados pela utilização de sementes de baixo potencial germinativo (SANTOS et al., 2011).

O vigor das sementes consiste no nível de energia que elas apresentam para realizar as rotas do processo germinativo (CARVALHO, 1986), é um teste relativo, que exige a estimativa de índices comparando-se lotes de maior e menor vigor. Testes relacionados a esta característica visam determinar possíveis diferenças na qualidade fisiológica de lotes que apresentem poder germinativo similar, mas exibem comportamentos diferentes, em condição de campo ou mesmo sob armazenamento.

Um coeficiente que auxilia na análise do comportamento de diferentes lotes de sementes durante o processo de germinação é o coeficiente de uniformidade de germinação. Este mostra o quanto a germinação do lote de sementes pode variar, em função das diferenças entre sementes individuais em relação ao tempo, principalmente no que se refere à dormência em sementes (CARMONA et al., 1998). Este parâmetro permite avaliar a uniformidade de germinação em relação às sementes de uma amostra, e consideram-se uniformes aquelas que apresentam valores maiores em relação às outras. (RANAL e SANTANA, 2004).

Análises de vigor são tidas como testes simples que, quando associados a bons resultados, podem ser aplicados a várias áreas de pesquisas de campo. Esses testes podem ser aplicados para comparar o vigor de sementes entre matrizes, progênies e diferentes procedências, possibilitando ao pesquisador melhorar seu banco de informações para que tenha sucesso em futuros programas de melhoramento ou conservação genética (SANTOS e PAULA, 2009). Testes como, índice de velocidade de germinação, primeira contagem de plântulas normais e condutividade elétrica, auxiliam na determinação desta característica.

O índice de velocidade de germinação, mais conhecido como IVG parte do princípio de que lotes de sementes que possuem maior velocidade de germinação são mais vigorosos. Portanto, é por meio deste teste que se determina o vigor, avaliando-se a velocidade da germinação das sementes por meio de expressão matemática. Maguire (1962) propôs uma fórmula das mais utilizadas para esta finalidade, cuja avaliação é feita diariamente a partir do surgimento de plântulas normais. Este índice é estimado durante a realização do teste de germinação.

O teste de condutividade elétrica parte do pressuposto que sementes com maior vigor tendem a reorganizar e reparar danos sofridos pelas membranas celulares após a dessecação. Considera-se, nesta condição, que as sementes embebidas em água exsudam íons, açúcares e metabólitos devido aos danos sofridos pela membrana celular. Assim, quanto maior o vigor menor a quantidade de lixiviados na água (DALANHOL et al., 2014).

O teste de primeira contagem parte do pressuposto de que as amostras que apresentam maior porcentagem de plântulas normais, nesta avaliação, são as mais vigorosas (MAGUIRE 1962; BRASIL, 2009).

O teste de germinação avalia a viabilidade e, quando bem realizado, fornece informações importantes sobre o desempenho de lotes em relação ao seu potencial germinativo. Ainda assim, com este tipo de teste não se consegue avaliar todas as características relacionadas com as diferenças entre lotes após a germinação/semeadura, sendo necessária a utilização de testes de determinação de vigor (BESSA et al., 2015).

Testes de germinação vêm sendo muito utilizados para determinação de viabilidade, pois podem detectar diferenças entre lotes da mesma espécie, proporcionar informações sobre espécies oriundas das mesmas condições ecológicas e climáticas e indicar substratos adequados para melhor desenvolvimento de plântulas. A partir deste, também é possível determinar a temperatura adequada para germinação de cada espécie, estudar os diferentes tipos de recipientes para o armazenamento e entender sobre condições de conservação, pois o desenvolvimento das sementes está relacionado com tempo e condições de armazenamento e a sua longevidade (SILVA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2014; CARVALHO et al., 2009).

O processo de deterioração de sementes inicia-se logo após estas atingirem seu ponto de maturidade fisiológica e pode ser potencializado mediante más condições de armazenamento. Estas são responsáveis pelo envelhecimento das sementes e afeta a conservação das sementes, pois causa perda da qualidade fisiológica, podendo levá-las à morte. Este processo consiste em alterações físicas, bioquímicas e fisiológicas intrínsecas à semente, que ainda não são conhecidos, mas sabe-se que essas alterações ocorrem em nível celular (KRANNER et al., 2011; SANTOS, 2014; MARCOS-FILHO, 2015).

A perda da integridade das membranas, queda ou alteração no metabolismo de reserva, diminuição na atividade respiratória, degradação ou diminuição na quantidade de ácido desoxirribonucleico (DNA) e danos à síntese de ácido ribonucleico (RNA) consistem em manifestações bioquímicas que não podem ser visualizadas durante o processo de germinação. Nestes casos, são necessários estudos ou análises específicas, como, por exemplo, análises da qualidade e integridade do RNA (SANTOS, 2014).

Estudos sobre a qualidade e integridade do RNA em sementes florestais ainda são escassos na literatura. No entanto, essa avaliação possibilita entender o comportamento das moléculas de RNA em sementes obtidas durante a maturação e após armazenamento, sendo este um fator determinante para se conhecer alterações na viabilidade e manutenção do poder de germinação destes propágulos (SANTOS, 2014). Mediante isto, estudos dessa natureza visam esclarecer o comportamento fisiológico das sementes antes e durante o armazenamento, e quando bem relacionados, proporcionam resultados favoráveis ao entendimento da conservação de sementes, possibilitando o descarte daquelas que se apresentarem inviáveis.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIE, T. et al. **A coleção nuclear de germoplasma de milho para o Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 37p., 2000. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Boletim de Pesquisa, 8)

AMARO, H. T. R. et al. Qualidade fisiológica de sementes de crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) durante o armazenamento, em função de embalagens. **MAGISTRA**, v. 27, n. 1, p. 138-144, 2015.

ARAÚJO, A. C. M.; SOUZA, M. V. **Análise da expressão enterolobiana em sementes e calos vegetais de *Enterolobium contortisiliquum***. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular), Universidade de Brasília, Brasília. 60p. 2007.

ARAÚJO, A. P.; SOBRINHO, S. P. Germinação e produção de mudas de tamboril (*Enterolobium Contortisiliquum* (Vell.) Morong) em diferentes substratos. **Revista Árvore**, Viçosa, v.35, n.3, p.581-588, 2011.

BARBEDO, C. J.; BILIA, D. A. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.4, p.431-439, 2002.

BARBÉRIO, C. J. et al. Estudo do banco de sementes em diferentes fisionomias de restinga no litoral sul de São Paulo. **Acta Biológica Catarinense**, v.1, n.2, p.28-35, 2014.

- BARRETTO, S. S. B.; FERREIRA, R. A. Aspectos morfológicos de frutos, sementes plântulas e mudas de Leguminosae Mimosoideae: *Anadenanthera colubrina* (Vellozo Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vellozo) Morong. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.2, p.223–232, 2011.
- BESSA, A. F. V. et al. Armazenamento do crambe em diferentes embalagens e ambientes: Parte I - Qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. March, v.19, n.3.p.231–237, 2015.
- BORBA FILHO, A. B.; PEREZ, S. C. J. G. de A. Armazenamento de sementes de Ipê-Branco e Ipê Roxo em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.259–269, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Serviço Nacional de Proteção de Cultivares. **Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de café (*Coffea* spp.)**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 2000. Seção 1, p.6-7.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS. 2009. 399p.
- CALDAS, ISLIANA GRIEBLER RIBEIRO. **Armazenamento de sementes germinadas de *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos e seu comportamento em viveiro**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômica – Botucatu. 87f., 2013.
- CARDOSO, R. B.; BINOTTI, F. F. da S.; CARDOSO, E. D. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função de embalagens e armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, p.272-278, 2012.
- CARMONA, R.; MARTINS, C. R.; FÁVERO, A. P. Fatores que afetam a germinação de sementes de gramíneas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 1, p. 16-22, 1998.
- CARVALHO, N. M. **Vigor de sementes**. In: CÍCERO, S. M.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W. R. (Coord). Atualização em produção de sementes. Campinas. Fundação Cargil. 1986. p.207-223.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo/PR: Embrapa Florestas. 2003. v.1, 1039p.
- CARVALHO, L. R.; SILVA, E. A. M.; DAVIDE, A. C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p.15-25, 2006.
- CARVALHO, J. M. F. C.; ARAÚJO, S. de S.; DA SILVA, M. A. **Preservação e intercâmbio de germoplasma**. Embrapa Algodão. Documentos, 2008.
- CARVALHO, L. R. de; CARVALHO, M. L. M. de; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de espécies florestais de Lauraceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, p.57–66, 2009.
- CHAVES, T. H. et al. Qualidade fisiológica das sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas*

L.) durante o armazenamento em três ambientes. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.5, p.1653–1662, 2012.

COSTA, T. G. et al. Lignina e a dormência em sementes de três espécies de leguminosas florestais da Mata Atlântica. **Floresta e Ambiente**, v.18, n.2, p.204-209, 2011.

COSTA, A. M.; SPEHAR, C. R.; SERENO, J. R. B. (Org.). **Conservação de recursos genéticos no Brasil**. 1ed. Brasília: Embrapa, 2012.

DALANHOL, S. J. et al. Teste de condutividade elétrica em sementes de *Bowdichia virgilioides* Kunth. **Floram**, v.21, n.1, p.69-77, 2014.
doi: <http://dx.doi.org/10.4322/floram.2014.013>.

DAL RI, L. et al. Comportamento da qualidade fisiológica de sementes de Capororoca-do-Banhado (*Myrsine parvifolia* A. DC.–Primulaceae) em diferentes tempos e condições de armazenamento. **Iheringia. Série Botânica**, v.72, n.3, p.403-408, 2018.

DE OLIVEIRA HOSSEL, J. S. A. et al. Perda do teor de água na viabilidade das sementes de uvaieira sob armazenamento. **Revista Brasileira de Tecnologia Agropecuária**, v. 1, n. 2, p. 113-117, 2018.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behaviour? *I. Coffee*. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.41, n.230, p.1167-1174, 1990.

FAO/IPGRI. **Genebank standards**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, and International Plant Genetic Resources Institute, Rome, 1994. 13p.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Conservation of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture**. 2017. Disponível em:
<<http://www.fao.org/agriculture/crops/core-themes/theme/seeds-pgr/conservation/en/>>
Acessado em 19/12/2017.

FARIA, R. Q. et al. Physiological quality of crambe seeds submitted to drying. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.3, p.453-460, 2014.

FARIAS, S. B.; NEGREIROS, J. R. S. Banco Ativo de Germoplasma: alternativa eficaz para a conservação da biodiversidade. **Jornal dia de Campo**. 2011. Disponível em:
<<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Newsletter.asp?id=24699&secao=Agrot emas>>. Acessado em 03/01/2018.

FÉLIX, F. C. et al. Dessecação e armazenamento de sementes de *Adonidia merrillii* (Becc.) Becc. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 1, p. 86-91, 2017.

FESSEL, S. A. et al. Teste de condutividade elétrica em sementes de soja armazenadas sob

GUEDES, R. S. et al. Armazenamento de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.1, p.68–75, 2012.

HAY, F. R.; PROBERT, R. J. Advances in seed conservation of wild plant species: a review of recent research. **Conservation Physiology**. v.1, n.1, p.11,. 2013.
doi:10.1093/conphys/cot030)

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Chapter 3: Storage. In: VOZZO, J. A. (Ed.) **Tropical tree seed manual**. Washington: United States Department of Agriculture/Forest Service, p. 125-136, 2003.

IPEF - **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**. 2018. Disponível em: <<http://www.ipef.br/identificacao/nativas/detalhes.asp?codigo=47>>. Acessado em 04/01/2018.

ISTA - **INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING**. Zürich. 2004. 174p.

KONG, L.; HUO, H.; MAO, P. Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed. **Frontiers in Plant Science**, v.6, p.158, 2015. doi:10.3389/fpls.2015.00158).

KRANNER, I.; CHEN, H.; PRITCHARD, H. W.; PEARCE, S. R.; BIRTIC, S. Inter-nucleosomal DNA fragmentation and loss of RNA integrity during seed ageing. **Plant Growth Regulation**, v.63, n.1, p.63-72, 2011.

LEAL, P. V. et al. Fotossensibilização hepatógena em bovinos intoxicados experimentalmente por *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.2, p.61-63.2016.

LIMA, A. L. S.; ZANELLA, F.; CASTRO, L. D. M. Crescimento de *Hymenaea courbaril* L. var. stilbocarpa (Hayne) Lee et Lang. e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae) sob diferentes níveis de sombreamento. **Acta Amazonica**, v.40, n.1, p.43-48, 2010.

LINGINGTON, S.; MANGER, K. Seed bank design: seed drying rooms. **Technical Information Sheet_11, Royal Botanic Gardens Kew**, UK, 2014.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Vl.1, 5 Ed, Nova Odessa: Editora Plantarum. 2008. 352p.

MAGISTRALI, P. R. et al. Physiological behavior of *Genipa Americana* L. seeds regarding the capacity for desiccation and storage tolerance. **Journal of Seed Science**, v.35, n.4, p.495-500, 2013.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.

MARCOS- FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 660p., 2015.

MARQUES, D. E.; SANTOS, K. W.; VALOIS, A. C. C. Conservação de Germoplasma Sementes a longo Prazo. **Procitropicos**. 2014. Disponível em: <<https://procitropicos.org.br/articulo/artigo-conservacao-de-germoplasma-sementes-a-em-longo-prazo-en-portugues/>>.Acessado em 03/01/2018.

MEDEIROS, A.C. de S.; EIRA, M. T. S da. Comportamento fisiológico, secagem e armazenamento de sementes florestais nativas. **Colombo: Embrapa Florestas**, 2006.

- MMA - **Ministerio do meio ambiente**. 2018. Disponível em:
<<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/conservacao-e-promocao-do-uso-da-diversidade-genetica/agrobiodiversidade/conserva%C3%A7%C3%A3o-in-situ,-ex-situ-e-on-farm>>.
Acessado em 06/01/2018.
- MORI, E. S.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FREITAS, N. P. **Sementes florestais** – Guia para germinação de 100 espécies nativas. São Paulo: Instituto Refloresta. 2012. 159p.
- NASCIMENTO, W. M. O. do; CICERO, S. M.; NOVENBRE, A. D. D. L. C. Conservação de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.1, p.24–33, 2010.
- NASCIMENTO, J. P. B.; VIEIRA, D. C. M.; MEIADO, M. V. *Ex situ* seed conservation of Brazilian cacti. **Gaia Scientia**, v.9, n.2, 2015.
- NASCIMENTO, R. F.; GAVRON, A. B.; BOWLES, S. Comparação entre diferentes métodos para determinação de umidade em grãos de feijão preto. **Revista Analytica**. 7p. 2017.
- NERY, M. C. et al. Classificação fisiológica de sementes florestais quanto a tolerância à dessecação e ao armazenamento. **Cerne**, v.20, n.3, p.477-483, 2014.
- NERY, F. C. et al. Storage of *Calophyllum brasiliense* cambess. seeds. **Brazilian Journal of Biology**, v.77, n.3, p.431–436, 2016.
- NOBRE, D. A. C. et al. Influência do ambiente de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de amaranto. **Comunicata Scientiae**, v.4, n.2, p.216–219, 2013.
- OLIVEIRA-BENTO, S. D. E. et al. Armazenamento de sementes de flor-de-seda [*Calotropis procera* (AITON) W.T. aiton]. **Revista Caatinga**, v.28, n.1, p.49–47, 2015.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T. et al. **Estudos florísticos e fitossociológicos em remanescentes de matas ciliares do Alto e Médio Rio Grande**. Belo Horizonte: CEMIG/UFLA/FAEPE. 1995. 27p.
- OLIVEIRA, M. D. M. et al. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Amburana cearensis* A.C. Smith submetidas à termoterapia e tratamento químico. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.33, n.1, p.45-50, 2011.
- OLIVEIRA, G. M. et al. Germinação de sementes de espécies arbóreas nativas da Caatinga em diferentes temperaturas. **Scientia Plena**, v.10, n.4, p.1-6., 2014.
- PESKE, S.T.; ROSENTHAL, M. D.; ROTA, G.R.M. Semetes: Fundamentos científicos e tecnológicos. 3ª edição. **Pelotas: Editora Rua, Pelotas**, 2006.
- PROBERT, R. J.; HAY, F. R. Ecological correlates of *ex situ* seed longevity: a comparative study on 195 species. **Annals of botany**, v.104, n.1, p.57-69, 2009.
- POHL, S. **Superação de dormência e armazenamento de sementes de *Mimosa flocculosa* Burkart**. Tese (Doutorado em Ciências) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. How and why to measure the germination process?. **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006.

RESENDE, O. et al. Modelagem matemática e difusividade efetiva das sementes de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) durante a secagem. **Engenharia Agrícola**, v.31, n.6, p.1123-1135, 2011.

RIVERA, A. A. C. **Qualidade fisiológica de sementes de milho doce sob diferentes condições de armazenamento**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras - Minas Gerais: UFLA. 77f., 2011.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n.4, p.499-514, 1973.

SALOMÃO, A. N. **Manual de Curadores de Germoplasma-Vegetal**: Glossário. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Documents (INFOTECA-E). 2010.

SANT'ANA, V. Z. et al. Parâmetros genéticos em progênes de polinização aberta de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong em Luiz Antonio, SP, Brasil. **Hoehnea**. v.40, n.3, p. 515-520. 2013.

SANTONIERI, L.; BUSTAMANTE, P. G. Conservação *ex situ* e *on farm* de recursos genéticos: desafios para promover sinergias e complementaridades. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v.11, n.3, p.677-690, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1981.81222016000300008>.

SANTOS, S. E. M. dos. **Avaliação da integridade de ácidos nucleicos em sementes envelhecidas de feijão-caupi**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Piauí. 53f., 2014.

SANTOS, S. R. G. dos; DE PAULA, E. R. C. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, v.37, n.81, p.7-16, 2009.

SANTOS, A. R. F.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A. Water pre-hydration as priming for *Moringa oleifera* Lam. seeds under salt stress. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v.14, n.1, p.201-207, 2011.

SARMENTO, H. G. S. et al. Determinação do teor de água em sementes de milho, feijão e pinhão-mansão por métodos alternativos. **Revista Energia na Agricultura**, v.30, p.249-256, 2015.

SCALON, S. P. Q. et al. Germinação e crescimento inicial da muda de orelha de macaco [*Enterolobium contortisiliquum* (Vell. Morong)]: efeito de tratamentos químicos e luminosidade. **Revista Árvore**, v.30, n.4, p.1401-1407, 2005.

SENA, C. M.; GARIGLIO, M. A. **Sementes Florestais**: colheita, beneficiamento e armazenamento. Natal: MMA. 2008. 28p.

SILVA, J. S.; AFONSO, A. D. L.; LACERDA FILHO, A. F. de. **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 560p., 2008.

- SILVA, F. S. da et al. Viabilidade do armazenamento de sementes em diferentes embalagens para pequenas propriedades rurais. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v.8, n.1, p.45–56, 2010.
- SILVA, A. da; PEREZ, S. C. J. G. de E. A.; PAULA, R. C. de. Qualidade fisiológica de sementes de *Psidium cattleianum* sabine acondicionadas e armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.2, p.197–206, 2011.
- SILVA, J. R. O.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; SILVA, I. C. O. Armazenamento de Sementes de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp.(FABACEAE) em Diferentes Embalagens e Ambientes. **Floresta e Ambiente**, v.21, n.4, p.457-467, 2014.
- SMANIOTTO, T. A. de S. et al. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.18, n.4, p.446-453, 2014.
- SMIDERLE, O. J.; LIMA, J. M. E.; PAULINO, P. P. S. Curva de absorção de água em sementes de *Jatropha curcas* L. com dois tamanhos. **Revista Agro@mbiente on-Line**, v.7, n.2, p.203, 2013.
- SWAINE, M. D.; WHITMORE, T. C. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. **Vegetatio**, v. 75, n. 1-2, p. 81-86, 1988.
- SOUZA, V. C.; ANDRADE, L. A.; CRUZ, F. R. S.; FABRICANTE, J. R.; OLIVEIRA, L. S. B. Conservation of marizeiro *Geoffroea spinosa* Jacq. seeds using different packagings and environments. **Ciência Florestal**, v.21, n.1, p.93-102. 2011.
<http://dx.doi.org/10.5902/198050982751>.
- VIEIRA, A. H. et al. **Técnicas de produção de sementes florestais**. Embrapa, Porto Velho, 2001.
- VICENTE, D. et al. Viability of *Ocotea puberula* (Rich.) Ness Seeds During Storage. **Floresta e Ambiente**, v.23, n.3, p.418-426, 2016.
- ZUCHIWSCHI, E.; FANTINE, A. C.; ALVES, A. C.; PERONI, N. Limitações ao uso de espécies florestais nativas pode contribuir com a erosão do conhecimento ecológico tradicional e local de agricultores familiares. **Acta Botanica Brasilica**, v.24, n.1, p.270-282, 2010.

4. ARTIGO 1

QUALIDADE FÍSICA E FISIOLÓGICA DE SEMENTES ARMAZENADAS DE *Enterolobium contortisiliquum* (VELL.) MORONG

Periódico a ser submetido

RESUMO

O armazenamento de sementes visa manter a viabilidade e o vigor delas por um maior período de tempo, conservando a sua longevidade. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade física e fisiológica de sementes de diferentes lotes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, submetidos a seis períodos de armazenamento (1, 5, 6, 7, 9 e 10 anos). Inicialmente determinou-se a curva de embebição e o teor de água das sementes armazenadas. Para avaliar a qualidade das sementes realizou-se o teste de raios – X, avaliações de viabilidade e vigor, condutividade elétrica (Ce) e integridade e qualidade do RNA. Os resultados dos testes foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey e Scott-Knott a 5%. O teor de água das sementes variou entre 4,6% a 16,01% entre os lotes. No teste de raios - X foi possível identificar as sementes cheias, com danos, mal formadas, translúcidas e vazias. As sementes armazenadas por 1, 5, 9 e 10 anos apresentaram percentuais de 78, 82, 42 e 38% de plântulas normais, respectivamente, enquanto os lotes com 6 e 7 anos apresentaram 0 e 6%. Pelo teste de integridade do RNA observou-se que os lotes com menor viabilidade sofrem alterações em nível de ácidos nucleicos. Altos teores de água, superiores a 6%, influenciam diretamente na qualidade das sementes armazenadas e podem ocasionar a sua deterioração. As sementes desta espécie apresentam alta longevidade, podendo ser mantidas em armazenamento, na condição estudada, por até 10 anos.

Palavras-chave: armazenamento, longevidade, viabilidade, conservação *ex situ*, tamboril.

ABSTRACT**Physical and Physiological Qualities of the Stored Seeds of *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong**

The storage of seeds aims to maintain their viability and their vigor for a longer period of time, and thus, it preserves their longevity. The present work was carried out with the objective of evaluating the physical and the physiological qualities of the seeds from different *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong seed lots, when they were submitted to six different storage periods (1, 5, 6, 7, 9 and 10 years). The imbibition curves and the water content of the stored seeds were initially determined. The qualities of the seeds were evaluated by X-ray tests. These X-ray tests assessed their viability and vigor, their electrical conductivity (Ce) and their RNA qualities and integrities. The results of the tests were submitted to an analysis of variance and the means were compared by Tukey's test and Scott-Knott's test at 5%. The water content of the seeds ranged from 4.6% to 16.01% among the different lots. When assessing the X-ray tests, it was possible to identify filled, damaged, malformed, translucent and empty seeds. In the RNA integrity tests, it was observed that the lots with a lesser viability underwent changes in their levels of nucleic acids. A water content higher than 6% directly influenced the quality of the stored seeds and this caused their deterioration. The seeds of this particular species presented a high longevity and they can be stored for up to 10 years under the studied conditions.

Key-words: storage, longevity, viability, ex-situ conservation, tamboril.

4.1 Introdução

Espécies florestais estão diminuindo devido ao elevado consumo de madeira e pelo avanço dos desmatamentos (SILVA et al., 2014a). Deste modo, o fortalecimento de políticas que visem minimizar a erosão de recursos genéticos vem se destacando de modo a indicar estratégias mitigadoras da degradação ambiental. Em meio a isto, leis de compensações ambientais surgem com o intuito de recompor matas nativas através de métodos de recuperação de áreas degradadas. Isto vem favorecendo o aumento da demanda de sementes florestais, uma vez que estas constituem o meio principal de reprodução das espécies e principal insumo para programas de manutenção de ecossistemas, devido ao seu baixo custo de obtenção (VECHIATO, 2010).

Entretanto, uma das dificuldades encontradas por esses programas é a baixa disponibilidade de sementes devido à sazonalidade na produção desses recursos genéticos em espécies nativas, em relação ao período de produção de mudas florestais. Em geral, as áreas perturbadas têm seu potencial de produção de frutos e sementes reduzidos em termos quantitativos e qualitativos (MAUÉS e DE OLIVEIRA, 2010). Diante disto, o armazenamento de sementes surge como uma boa estratégia de conservação *ex situ* de recursos genéticos, com o intuito de fornecer esses insumos por um maior período de tempo, proporcionando um uso mais adequado em programas de recuperação de áreas degradadas e de melhoramento genético (SOUZA et al., 2011; AMARO et al., 2015; SANTONIERI e BUSTAMANTE, 2016).

O armazenamento de sementes tem como objetivo manter a qualidade fisiológica, visando controlar a velocidade da deterioração sem interferir na sua viabilidade e no vigor, influenciando positivamente a longevidade das sementes (MOROZESK et al., 2014).

O monitoramento da viabilidade de sementes durante o armazenamento, feito a partir de amostras para posterior realização do teste de germinação, é um aspecto essencial para o efetivo manejo de coleções de bancos de sementes. Em bancos de germoplasma, existe uma recomendação de se analisar as sementes a cada 5 ou dez anos, para média e longa conservação (FAO/IPGRI, 1994).

Enquanto muitos protocolos sugerem a conservação de sementes ortodoxas com baixos teores de água e em ambiente com baixa temperatura para favorecer a conservação, os níveis ótimos de conteúdo de água ainda são pouco conhecidos para espécies nativas. Estudos do ambiente ótimo para armazenamento de sementes florestais são mais difíceis, pois requerem mais tempo e as pesquisas, algumas vezes, usam testes de envelhecimento acelerado para realizar inferências sobre a viabilidade durante o armazenamento (KONG et al., 2015).

Testes como germinação, tetrazólio e raios-X vêm sendo conduzidos a fim de se conhecer o comportamento das espécies sob diferentes condições de armazenamento (KARRFALT, 2004). No entanto, ainda existem poucas informações para espécies nativas brasileiras. Mediante isto, pesquisas relacionadas ao desempenho desses propágulos fitogenéticos durante longos períodos de armazenamento são capazes de gerar informações para estabelecer melhores técnicas de conservação das espécies, além de contribuir com informações sobre a preservação da qualidade fisiológica das sementes.

Enterolobium contortisiliquum (Vell.) Morong é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae–Mimosideae, conhecida popularmente por tamboril, orelha de negro, timbaúva, timbó e pacará, dentre outras denominações (LORENZI, 2002). É de origem brasileira, podendo ser encontrada no Pará, Maranhão e Piauí até o Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul, nas florestas pluviais e semidecídua (ARAÚJO e SOBRINHO, 2011). Sua propagação é feita por sementes e, na literatura, pouco se conhece sobre as alterações físicas, fisiológicas e bioquímicas das sementes desta espécie mediante condições de armazenamento.

Diante disto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade física e fisiológica de diferentes lotes de sementes de *E. contortisiliquum*, submetidos a seis períodos de armazenamento (1, 5, 6, 7, 9, e 10 anos), em condições de câmara fria.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Obtenção dos frutos e caracterização dos municípios de coleta

Os frutos de tamboril foram colhidos no Estado de Sergipe em diferentes matrizes, situadas nos municípios de Aracaju, Capela, Lagarto, Moita Bonita e Santana do São Francisco nos anos de 2007, 2008, 2010, 2011, 2012 e 2016 (TABELA 1).

TABELA 1. Procedência, localização e precipitação pluviométrica dos municípios sergipanos e respectivos anos de coleta e tempos de armazenamento dos lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.

Procedência	Coordenadas		Σ Precipitação o* (mm/ano)	Ano de coleta	Tempo de armazenam ento (Anos)
	Latitude	Longitude			
Santana do São Francisco	10° 17' 28"S	36° 36' 29"W	1.110,67	2007	10
Aracaju	10° 54' 40"S	37° 04' 18"W	1.340,93	2008	9
Capela	10° 30' 12"S	37° 03' 10"W	1.260,45	2010	7
Lagarto	10° 55' 02"S	37° 39' 00"W	1.335,84	2011	6
Moita Bonita	10° 34' 39"S	37° 20' 34"W	1.298,09	2012	5
Aracaju	10° 54' 40"S	37° 04' 18"W	1.340,93	2016	1

Fonte: www.geografos.com.br; Xavier et al. (2016). Obs.: * a precipitação refere-se ao valor acumulado do ano de produção.

Os municípios de coleta estão localizados na região Agreste (Santana do São Francisco, Capela, Lagarto e Moita Bonita) e na região Litorânea (Aracaju) no estado de Sergipe.

Esses municípios estão situados na mesma faixa climática, conhecida como Tropical Monções (As) (Figura 1) (KOTTEK et al., 2006). Os frutos, depois de colhidos, foram beneficiados manualmente com auxílio de martelo de borracha para a extração das sementes. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em sacos plásticos transparentes e impermeáveis, mantidas em câmara fria com temperatura de 6°C a 9°C e 60% a 65% de UR. Esta condição foi mantida até a instalação dos testes em 2017.

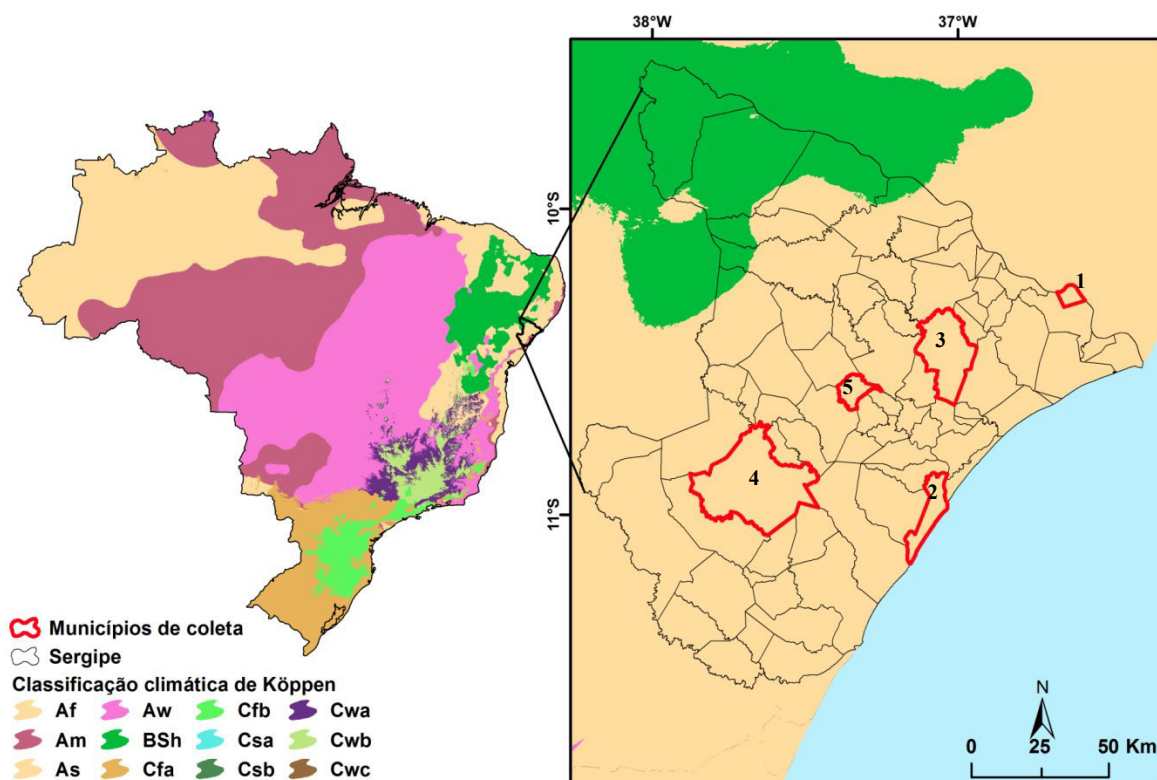


Figura 1. Municípios de procedências das coletas de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong no Estado de Sergipe, em relação à faixa de classificação climática proposta por Köppen. 1 – Santana do São Francisco; 2 – Aracaju; 3 – Capela; 4 – Lagarto; 5 – Moita Bonita.

Santana do São Francisco: ocupa uma área territorial de 45.105 km² possuindo cerca de 7.751 habitantes (IBGE, 2017). Este município, que está localizado na mesorregião do leste sergipano, apresenta clima do tipo megatérmico seco a sub-úmido com temperatura média anual de 26°C, uma precipitação pluviométrica média anual de 1.200 mm e período chuvoso de março a agosto. O solo deste município é do tipo Podzólico Vermelho-Amarelo e as fisionomias vegetacionais que compõem o mesmo são de mata, capoeira, Cerrado e pastagem (SERGIPE., 1997/2000).

Aracaju: ocupa uma área de 181,857 Km² e apresenta uma população de 650.160 habitantes (IBGE, 2017). Encontra-se localizado na mesorregião do leste sergipano e seu clima é caracterizado como megatérmico úmido e sub-úmido com temperatura média de 26°C, um índice de pluviosidade média anual de 1.590 mm e seu período chuvoso ocorre entre os meses de março a agosto (PMA, 2017). Seu solo é caracterizado em mangue (indiscriminados), Podsol, areias Quartzosas Marinha, Podzólico Vermelho-Amarelo e Glay pouco úmido. Já a sua vegetação é caracterizada em campos limpos e sujos e vegetação higrófita (Campos de Várzeas e manguezais) tidas como tipologias vegetacionais de Mata Atlântica (PMA, 2017).

Capela: ocupa uma área territorial de 442, 211 km² e apresenta uma população de aproximadamente 34.050 habitantes, segundo dados do IBGE (2017). Está localizado na mesorregião Agreste do Estado, e apresenta um clima regional considerado megatérmico sub-úmido com temperaturas médias anuais de 24,9°C, precipitação média anual em torno de 1.372 mm e chuvas concentradas entre os meses de março e agosto (FONTES, 1998). Sobre a sua geologia, sabe-se que seus solos são Podzólicos Vermelho-Amarelo equivalente Eutróficos, escuro, Latosol Vermelho Amarelo e aluvial Utróficos e Distróficos (MEIO, 2009). A vegetação da região apresenta porte arbóreo, caracterizada em Floresta Estacional Decidua (Mata Atlântica) e a Estepe (Caatinga Nordestina) (IBAMA, 1999).

Lagarto: possui cerca de 104.099 habitantes e uma área territorial de 968,921 km² e seu território encontra-se inserido da Mesorregião do Agreste Sergipano. Seu clima é caracterizado como semiárido e sub-úmido a seco com temperatura média de 24°C, apresentando uma pluviosidade média anual de 1.122,35 mm sendo os meses de março a julho os mais chuvosos (IBGE, 2017; PML, 2018). Em relação à geologia deste município, observa-se uma grande variação de tipos de solo, podendo ser encontrados Planossóis, Litólicos, Eutróficos, Podzólicos Vermelho-Amarelo e Latossóis. A vegetação deste é caracterizada em Caatinga arbórea-arbustiva e Mata Atlântica (matas secundárias) (EMDAGRO, 2008; PML, 2018).

Moita Bonita: possui área de 95,416 km², uma população de 11.438 habitantes e está localizado na zona central do Estado de Sergipe, compreendido pela mesorregião do Agreste sergipano (SANTOS et al., 2017; IBGE, 2017). O mesmo encontra-se parcialmente incluído na área do polígono das secas, apresentando clima do tipo megatérmico seco a sub-úmido, transição para semiárido e uma temperatura média anual de 24°C. Sua precipitação pluviométrica média no ano de 1.000 mm e o período chuvoso ocorre de março a agosto. Os solos característicos são Podzólicos Vermelho-Amarelo equivalente Eutrófico, Litólico, e Planosol, configurando uma vegetação de Capoeira, Caatinga, Campos Limpos e Campos Sujos (SERGIPE, 1997/2000).

Nossa Senhora do Socorro: ocupa área municipal de 157,018 km², é constituído por um total de habitantes de aproximadamente 181.928 (IBGE, 2017) e encontra-se localizado na região leste do Estado de Sergipe, Apresenta clima do tipo megatérmico seco e sub-úmido, mais conhecido como tropical quente e úmido, com um a três meses secos, temperatura média anual de 25°C, precipitação pluviométrica média anual de 1.509,80 mm e o período chuvoso concentra-se entre março a agosto (EMDAGRO, 2009). Nesta região municipal podem-se encontrar solos do tipo Podzólico Vermelho-Amarelo, Podzol e Gley pouco úmido. A vegetação encontrada na região é do tipo rasteira e matas de restinga, caracterizada principalmente pela presença de coqueiros. Também são encontradas áreas de manguezais próximas aos rios do Sal, Cotinguiba e Sergipe (PMNSS, 2017).

4.2.2 Tratamento para a superação da dormência das sementes

As sementes tiveram a dormência superada por meio de escarificação química (EIRA et al., 1993; SCALON et al., 2006; ALEXANDRE et al., 2009), com ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄ 98% p.a), mantendo-se as sementes imersas por 40 minutos. Após este período, as sementes passaram por uma tríplex lavagem com água destilada, procedendo-se em seguida as análises de viabilidade e vigor. Para a determinação da curva de embebição, utilizou-se a escarificação mecânica feita na região oposta ao hilo com o auxílio de lixa nº 60.

4.2.3 Determinação da curva de embebição

Para a determinação da curva de embebição, utilizaram-se apenas os lotes de 2008 e 2012 (9 e 5 anos de armazenamento) devido a maior disponibilidade de sementes. Foram empregadas quatro repetições de 25 sementes por lote. Estas foram dispostas uniformemente em papel de germinação (germitest) estéril e umedecido com 2,5 vezes o peso de papel com água destilada. As sementes foram mantidas em incubadoras do tipo B.O.D. a 25°C sob fotoperíodo de 12:12 horas (luz/escuro). As avaliações para obtenção da curva de embebição ocorreram a cada 2 horas nas primeiras 24 horas. Após este período, as avaliações seguiram a cada 4 horas até à protrusão radicular.

Para avaliar o ganho de água pelas sementes, foi realizada a pesagem em balança analítica de uma única semente e, posteriormente, do conjunto de 25 sementes por repetição. As pesagens foram realizadas até que 60% das sementes de cada repetição dos lotes protrussem as radículas. A média dos dados das pesagens foi estimada e a partir disso determinou-se a quantidade de água embebida pelas sementes. Os procedimentos adotados correspondem aos indicados por Rabbani et al. (2013).

4.2.4 Determinação do teor de água

O teor de água das sementes foi determinado no ano de 2017, por meio de dois métodos. O primeiro, em estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas, utilizando-se duas repetições de 5g de sementes cada, conforme sugerido nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). O segundo, por infravermelho (TOP-RAY), em que se utilizou quatro repetições com 5g de sementes partidas, a fim de proporcionar uma melhor atuação do aparelho na retirada da umidade, de acordo com instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em percentagem (base úmida) (BRASIL, 2009).

4.2.5 Determinação da viabilidade e do vigor

A determinação da viabilidade das sementes foi realizada por meio de teste de germinação, em incubadora tipo B.O.D a 25°C e fotoperíodo de 12:12 horas (luz/escuro). As sementes foram semeadas em bandejas de plásticos (11x11x2,5cm) e o substrato empregado foi areia (lavada, peneirada e esterilizada a 120°C por 24h, em estufa com circulação de ar forçada). As sementes foram semeadas sob substrato. A sala de germinação foi mantida climatizada à temperatura ambiente de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

As avaliações foram realizadas a cada 48 horas durante o período de 30 dias. Considerou-se germinadas as sementes que originaram plântulas com todas as estruturas essenciais normais, descritas pelo Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais (LIMA JÚNIOR, 2010). Além das plântulas normais, também foram avaliadas sementes que emitiram radícula (germinação fisiológica), sementes deterioradas e plântulas anormais.

As avaliações da germinação foram realizadas utilizando-se 8 repetições de 25 sementes de cada lote, e os testes foram montados em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

A partir das avaliações de germinação ao longo do tempo, calculou-se o índice de velocidade de germinação (IVG), conforme sugerido por Maguire (1962), o tempo médio de germinação (Tmg) e o coeficiente de uniformidade de germinação (Cug) (SANTANA e RANAL, 2000).

4.2.6 Determinação da condutividade elétrica

Visando à avaliação de danos nos sistemas de membranas celulares, realizou-se a condutividade elétrica nos lotes armazenados por 5, 6, 7 e 9 anos devido à disponibilidade das sementes. A determinação foi realizada em duas temperaturas, 25°C e 40°C . Os procedimentos adotados para a temperatura de 25°C corresponderam aos indicados por Santos e Paula (2005), utilizando-se quatro repetições de 25 sementes embebidas por 24 horas, em 75 mL de água ultrapura, mantidas em câmara B.O.D., no escuro. Para a avaliação da condutividade à temperatura de 40°C , adotou-se o mesmo procedimento. Os resultados foram obtidos a partir de condutivímetro (MARCONI modelo MA-521).

4.2.7 Teste de Raios-X

O Teste de raios-X foi realizado no Laboratório de Entomologia Agrícola da UFS. Para obtenção das imagens radiográficas das sementes foi utilizado o equipamento digital Faxitron X-ray Corp (modelo HP MX-20), acoplado a um computador. Por meio deste, 200 sementes de cada lote, divididas em 8 repetições com 25 sementes foram radiografadas a uma intensidade e radiação de exposição 22kv por 5,8 segundos, determinados automaticamente pelo aparelho de raios-X (BRASIL, 2009). As sementes foram dispostas sobre uma transparência utilizando-se fita dupla face para um melhor posicionamento das mesmas durante o tempo de exposição à radiação. Desta forma, foi possível identificar cada semente para uma avaliação posterior no teste de germinação. Em seguida, as sementes foram classificadas em cinco categorias: 1) cheias, 2) com danos (injúrias mecânicas ou ocasionadas por insetos), 3) translúcidas, 4) mal formadas e 5) vazias. Visando à identificação de diferenças entre os lotes, as radiografias foram analisadas com o software ImageJ, versão 1,49s (ABRAMOFF et al., 2004). Foram obtidas informações sobre a densidade máxima e mínima de pixels e plotagens tridimensionais para cada categoria de semente identificada, visualizando-se as estruturas internas. As análises estatísticas para os parâmetros de densidade média foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR® versão 5.1 (FERREIRA, 2011).

4.2.8 Determinação da integridade e qualidade do RNA

Para esta análise, as sementes foram mantidas em água ultrapura por 24 horas e, em seguida, os seus embriões foram extraídos. A partir destes, realizou-se a extração do RNA usando-se kit comercial Nucleospin® RNA II (Macherey-Nagel), de acordo com as instruções do fabricante. O RNA foi quantificado e a qualidade foi avaliada por meio da razão de nanoespectrofotometria a 260/230 e 260/280 nm. Para obter informações sobre a integridade do RNAr, 1µg de RNA foi submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida a 1,0%, corado com prata.

4.2.9 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à avaliação da homocedasticidade de variâncias para testar a distribuição normal. As variáveis que apresentaram p-valor menor que os do teste de normalidade tiveram suas médias transformadas. Após isto, realizou-se a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey para o teste de germinação, e para os demais, as médias foram comparadas pelo teste de Scott–Knott, ambos ao nível de 5% de probabilidade. Os dados de porcentagem de germinação não apresentaram distribuição normal e foram transformados em arco.seno $\sqrt{x/100}$. Os demais dados, que também não apresentaram distribuição normal foram transformados para $\sqrt{x}/100$ (TABELA 2), segundo recomendações do programa SISVAR (FERREIRA, 2011).

TABELA 2. Teste de normalidade (W) de Shapiro-Wilk e seu valor de significância ($Pr < W$) para dados obtidos em análises de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.

Variáveis avaliadas no teste de germinação	W	Pr<W
Emissão de Radícula	0,81	0,0000024
Plântulas Normais	0,90	0,0008145
Plântulas Anormais	0,85	0,0000222
IVG	0,90	0,0006495
Peso Fresco	0,81	0,0000020
Condutividade Elétrica	0,94	0,0745763
Sementes Deterioradas	0,81	0,0000018

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Curva de embebição de sementes

Para a curva de embebição, observou-se que as sementes de tamboril iniciaram a protrusão da radícula com 108 horas para o lote de 2012 (5 anos de armazenamento) e 128 horas para o lote de 2008 (9 anos de armazenamento). Ambos os lotes atingiram a primeira fase de embebição, caracterizada por uma maior absorção de água, em 72 horas. No entanto, apresentou ganho de água mais lento, aproximadamente de 0,55 mg para o lote com 9 anos, e 0,5 mg para o lote com 5 anos. Para a segunda fase, não se observou a mesma tendência na embebição para os lotes.

O lote com 5 anos de armazenamento absorveu aproximadamente 0,22 g de água, enquanto o lote com 9 anos absorveu cerca de 0,28 g de água. A partir desta observação pôde-se constatar diferenças distintas na embebição dos lotes, o que permite inferir que o lote com 5 anos precisou de menos tempo para completar a fase denominada de fisiológica de todo o processo de germinação (FIGURA 2).

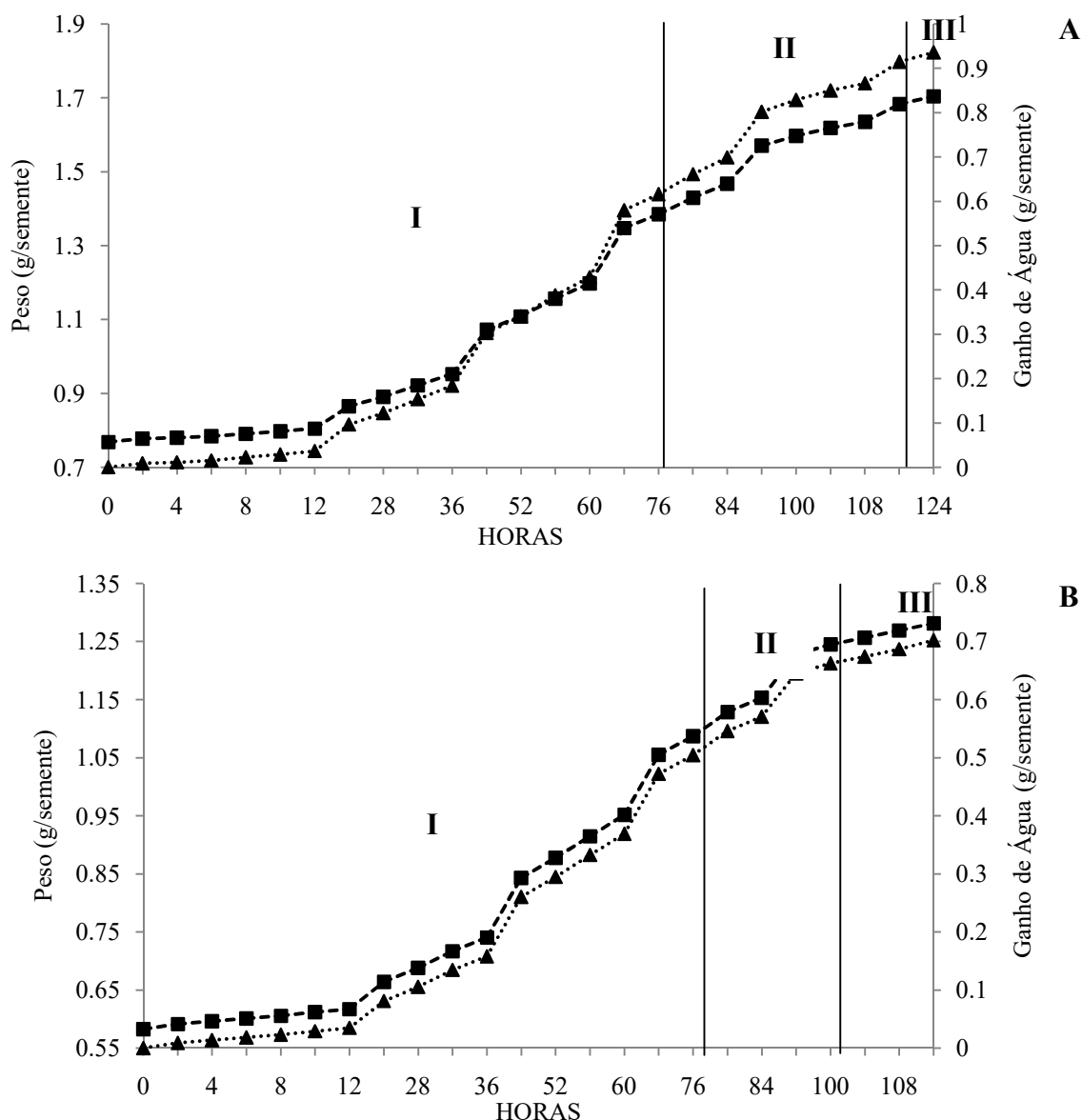


FIGURA 2. Comportamento de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, quanto ao ganho de água, protrusão de radícula (■) e peso da semente (▲) para dois lotes armazenados em câmara fria. A – lote com 9 anos (2008) e B – lote com 5 anos (2012) de armazenamento.

A terceira fase, caracterizada pela protrusão da radícula, pôde ser evidenciada a partir de 96 horas de embebição para o lote com 5 anos de armazenamento. No total, foram necessárias 96 horas de embebição com um ganho de aproximadamente de 0,65g de água para que ocorresse a protrusão radicular. Para o lote mais antigo, esta fase iniciou-se a partir de 108 horas de embebição, sendo necessário 0,78g de água para que ocorresse a protrusão.

Com base nestes resultados pode-se inferir que as sementes analisadas não apresentam um padrão de embebição trifásico, semelhante ao observado para a maioria das espécies. A absorção de água na primeira fase é mais lenta, seguida por uma fase curta e com menor ganho de água. É importante ressaltar que para a avaliação do ganho de água durante a embebição, as sementes foram escarificadas com lixa nº 60 e colocadas entre papel germitest.

Os resultados obtidos neste trabalho são corroborados por Silva et al. (2014b), uma vez que na determinação da curva de embebição de sementes de *E. contortisiliquum* também observaram que esta espécie não se adéqua ao padrão trifásico de embebição proposto por Bewley e Black (1994).

Toda semente, sendo ela viável ou não, consegue realizar a primeira fase de embebição, pois esta consiste em um mecanismo físico e a absorção ocorre por diferença de potencial hídrico, matricial e osmótico da semente em relação ao meio. E na segunda fase, em que ocorrem os processos bioquímicos, é que a semente mostra todo o seu potencial de viabilidade (germinação e vigor). Portanto, é nesta fase que se inicia todo o processo de diferenciação celular, síntese e reparo de ácidos nucleicos, quebra e mobilização de reservas, dentre outras atividades, promovendo a protrusão da radícula. A terceira e última fase de embebição só é alcançada por sementes não dormentes e viáveis, e é identificada pelo alongamento de células embrionárias e posterior protrusão da radícula (BEWLEY, 2013; ATAÍDE et al., 2014; MARCOS-FILHO, 2015).

As variações na velocidade de germinação dependem de fatores como composição química da semente (carboidratos, lipídios ou proteínas), permeabilidade do tegumento, tamanho do embrião, integridade das membranas e do tecido de reserva. O tegumento de tamboril é espesso e coriáceo, o que pode ter contribuído ou influenciado numa embebição diferente daquela proposta por Bewley e Black (1994), ou ainda, pode estar relacionado a uma combinação de vários fatores. O tegumento exerce uma ação de promoção/restrrição à germinação, sendo na maioria das vezes impermeável à água e/ou ao oxigênio, ou por sua resistência mecânica à protrusão radicular. A propriedade da impermeabilidade, algumas vezes, tem sido positivamente relacionada com a cor do tegumento devido à presença de compostos fenólicos, comprovado por estudos em diversas espécies (DEBEAUJON et al., 2000).

Sementes de tamboril apresentam coloração escura e dormência devido ao tegumento extremamente coriáceo, à semelhança de outras espécies leguminosas. Deste modo, pode-se supor que este envoltório protetor também atua na regulação do teor de água nas sementes.

4.3.2 Teor de água

O teor de água apresentado pelas sementes de *E. contortisiliquum*, obtido pelo teste de estufa a 105°C foi de 4,61; 7,35; 15,41; 12, 53; 12,13 e 12,97% para os lotes com 1, 5, 6, 7, 9 e 10 anos de armazenamento, respectivamente (FIGURA 3). Pesquisas expõem a necessidade de se ter testes rápidos para a avaliação do teor de água nas sementes. No entanto, tais testes precisam ser testados por meio de comparações com testes já validados. Assim, realizou-se o segundo método, por infravermelho, que apresentou valores bem próximos ao teste de estufa conforme recomendado pela RAS (BRASIL, 2009), com exceção dos lotes com 1 e 5 anos de armazenamento, cujo os valores foram divergentes em aproximadamente 2,3 pontos percentuais.

Esta diferença pode ter ocorrido devido à maior exposição das amostras de sementes, pois neste método é solicitado que se triture ou quebre ao máximo as sementes para que as ondas do infravermelho tenham uma melhor atuação. Estudos sobre determinação de teor de água em sementes de *E. contortisiliquum*, revelam que, para esta espécie, o recomendando é que se faça cortes ao meio da semente visando à obtenção de um melhor resultado (ARAÚJO et al., 2013)

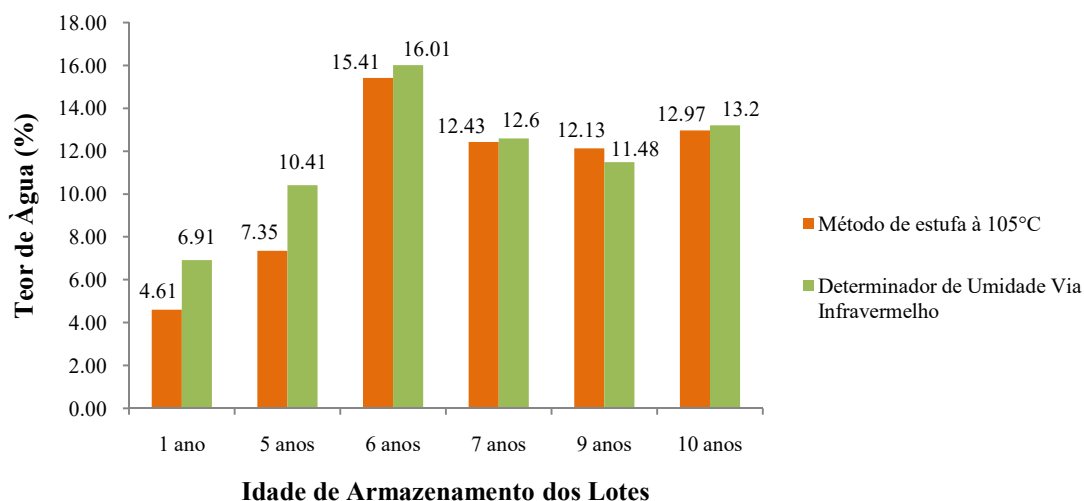


FIGURA 3. Teor de água (%) de lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.. com diferentes idades, armazenados em câmara fria.

Pela análise dos dados obtidos com os dois métodos, pode-se verificar que as sementes dos lotes com apenas 1 e 5 anos de armazenamento apresentaram menor teor de água. As sementes do lote armazenado por 6 anos, apresentaram os maiores percentuais de teor de água para ambos os métodos (15,41 e 16,01%). Os demais lotes, de maneira geral, apresentaram pouca variação entre os métodos, inferior a 1%.

O equipamento de infravermelho possui uma balança que fornece a leitura direta do conteúdo de água por diferença de massa, sendo que a retirada desta ocorre de forma mais eficiente, pois envolve a penetração do calor dentro da amostra, reduzindo-se assim o tempo da análise. Em um estudo realizado com sementes de feijão preto, onde foi possível comparar três diferentes métodos de determinação de umidade para esta espécie, comprovou-se que este método é tão eficiente quanto o método de secagem em estufa (NASCIMENTO et al., 2017), uma vez que os resultados obtidos foram semelhantes estatisticamente.

Na maioria das vezes, quando colhidas posteriormente à maturidade fisiológica, as sementes ortodoxas apresentam um teor de água não favorável ao armazenamento, uma vez que este teor de água está acima do ideal para esta finalidade. Esta condição pode promover aumento da atividade metabólica, e levá-las a sofrer danos irreversíveis acentuando-se o envelhecimento e culminando-se com a sua morte. Assim, o processo de secagem é essencial, visto que baixos teores de água podem contribuir para mitigar os efeitos da deterioração, assegurar a qualidade da semente e a manter a longevidade nas sementes ortodoxas (RESENDE et al., 2011; FARIA et al., 2014).

Em sementes de *Crambe abyssinica* Hortsh Ex. R. T., submetidas à secagem, observou-se que aquelas com maiores teores de água apresentaram menor percentual de germinação e sofreram mais danos fisiológicos ao serem secas, quando comparadas com as que apresentavam menor teor de água inicial (FARIA et al., 2014).

O teor de água é considerado um dos principais fatores atuantes no processo de deterioração de grãos e sementes armazenadas. Observa-se, em geral, que quanto menor o teor de água dentro delas, menor é a atividade metabólica, menor a respiração e menor ação de micro-organismos (PESKE et al., 2003; RESENDE et al., 2011).

4.3.3 Viabilidade e vigor

A viabilidade, avaliada pelo teste de germinação, comprova que o armazenamento em câmara fria com temperatura e umidade controladas para sementes de tamboril apresenta-se como um meio de conservação *ex situ* de sucesso, pois foi possível obter germinação, mesmo após dez anos de armazenamento (FIGURA 4). No entanto, o tempo de armazenamento influenciou na porcentagem final de germinação, comprovado pelo teste F, com diferença significativa entre os lotes para todas as variáveis (ANEXO 1).

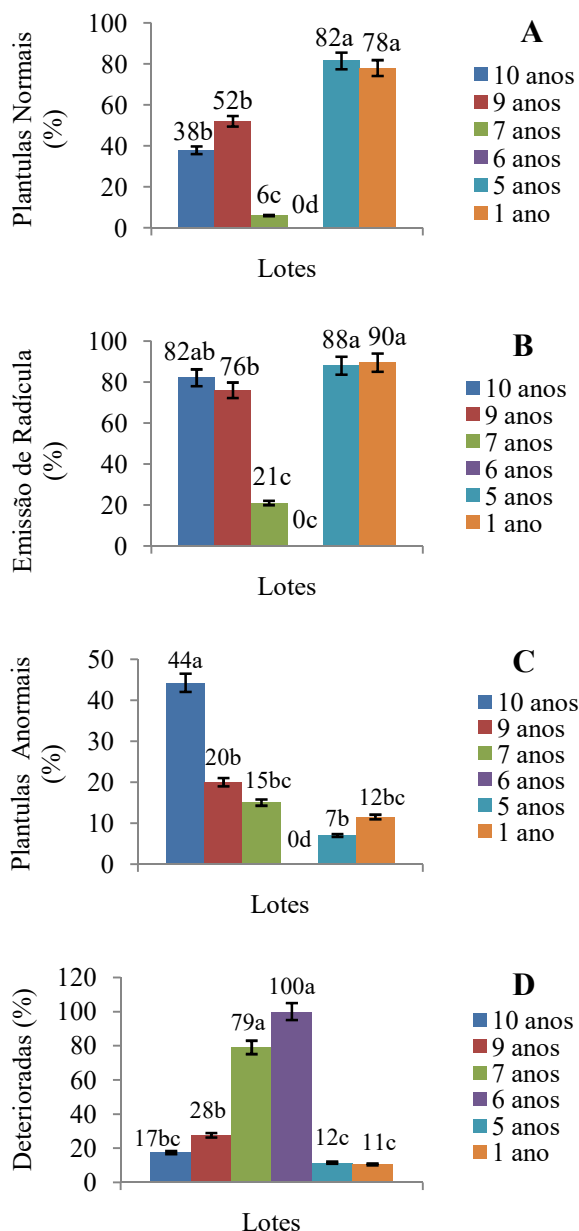


FIGURA 4. Desempenho de lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, armazenados em câmara fria, quanto à viabilidade. A - Plântulas Normais; B - Emissão de radículas ao oitavo dia; C - Plântulas Anormais e D -. Sementes deterioradas.

Os lotes com 1 e 5 anos de armazenamento foram semelhantes e superiores aos lotes com 6, 7 e 9 anos em relação à emissão de radícula. No entanto, o lote 10 apesar de ser semelhante aos lotes 1 e 5, não diferiu estatisticamente do lote armazenado por 9 anos. Deve-se considerar que apenas o lote 6 apresentou média igual a zero.

Algumas pesquisas relacionadas à germinação e ao uso de tratamentos para superação de dormência de *E. contortisiliquum*, com ácido sulfúrico e em tempos próximos aos utilizados neste trabalho, também apresentaram resultados semelhantes aos obtido aqui para sementes que emitiram apenas a radícula, com aproximadamente 90% (MALAVASI e MALAVASI, 2004). Porém, um outro trabalho sugere a escarificação mecânica, empregando-se lixa nº 80, como sendo um método mais adequado, pois obteve-se 100% de emissão de radículas (CRUZ - SILVA e ROSA, 2011). Apesar da diferença entre os métodos, ambos são eficientes na superação da dormência em tamboril. Contudo, para a determinação da curva de embebição realizou-se a escarificação com lixa nº 60 obtendo-se emissão de radícula no 4º dia, enquanto no teste de germinação, com uso de ácido sulfúrico, a emissão de radícula ocorreu no 2º dia.

Além da escarificação, deve-se considerar também qual o substrato está sendo utilizado para a espécie. Especificamente, no caso deste trabalho, empregou-se papel germitest para a curva de embebição e areia na avaliação da germinação (FIGURA 5).

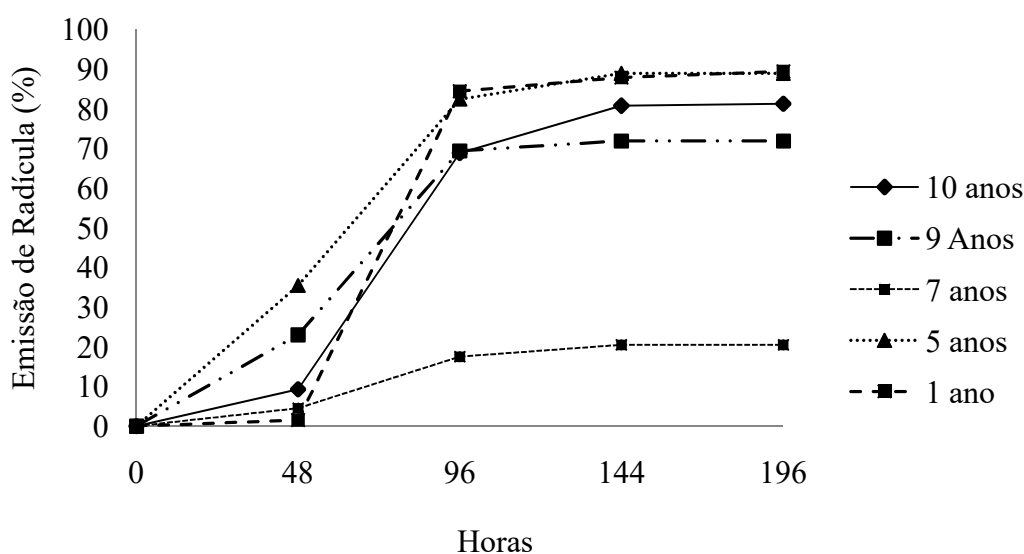


FIGURA 5. Porcentagem de emissão de radículas emitidas para 5 lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong armazenados em câmara fria.

Utilizando-se papel germitest e escarificação mecânica, à semelhança do empregado na determinação da curva de embebição, a protrusão da radícula se deu com 96 horas para o lote de 5 anos. Por outro lado, no teste de germinação, utilizando-se areia e escarificação química, a emissão da radícula ocorreu com 48 horas.

Quanto à obtenção de plântulas anormais, o maior percentual foi observado no lote mais velho (44%) (FIGURA 4C). Este fato pode ser entendido como sendo uma condição natural, pois os danos genéticos e as alterações fisiológicas causadas pelo processo de deterioração são inevitáveis e podem influenciar no desempenho das sementes. No entanto, a expressão deste fenômeno pode ser atribuída aos fatores genéticos, pois danos ao genoma podem acarretar uma maior formação de plântulas anormais (SANTOS et al., 2004; PARRELLA, 2009).

Em relação aos lotes com 7 e 6 anos de armazenamento, observou-se que estes apresentaram as menores médias para as variáveis de emissão de radículas (21 e 0%) e formação de plântulas normais (15 e 0%), e as maiores médias para a deterioração de sementes, chegando a atingir os percentuais de 79 e 100%, respectivamente (FIGURA 4D).

A germinação de tamboril é relativamente lenta e desuniforme (FIGURA 6). O tempo médio de germinação (Tmg) mostra que não houve diferença estatística entre os lotes armazenados.

Sabe-se que a dormência em sementes exerce influência sobre o processo de germinação agindo de maneira positiva sob os aspectos ecológicos, pois impede que a semente germine sob condições ambientais desfavoráveis a ela; e negativa sob os aspectos silviculturais, visto que atrasa todo o processo de produção de mudas, devido à germinação não homogênea ao longo do tempo (COSTA et al., 2010; DE FREITAS et al., 2016), ou pode influenciar também nas análises de laboratório, se esta não for identificada e superada.

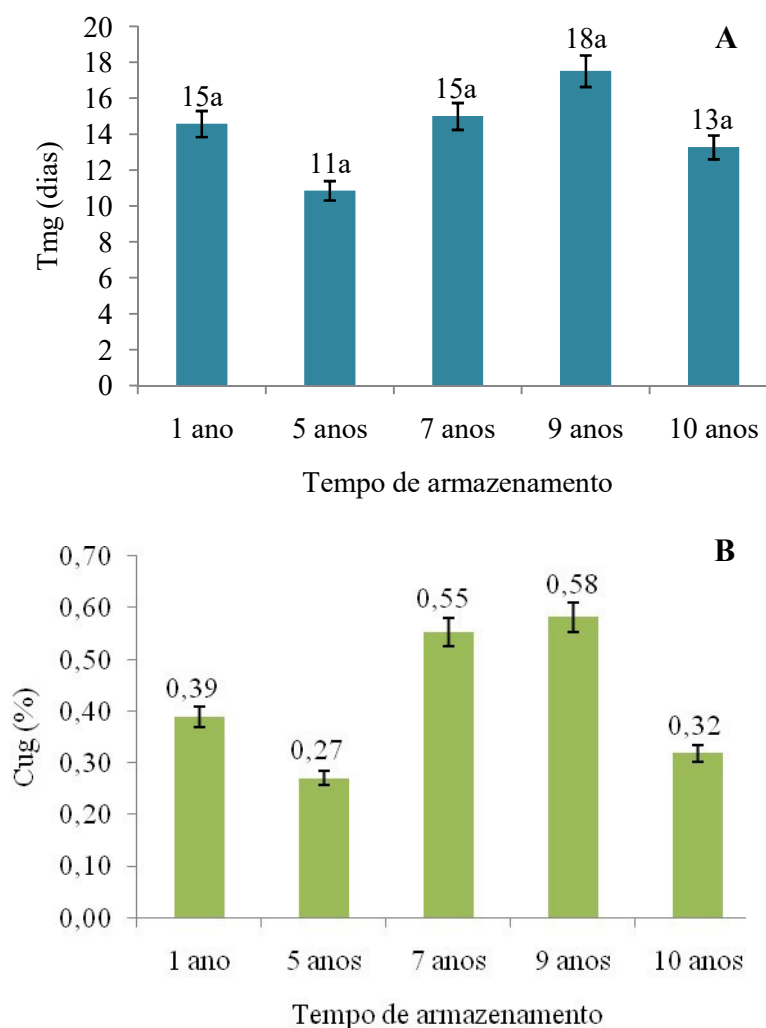


FIGURA 6. Tempo médio de germinação (Tmg) e coeficiente de uniformidade de germinação (Cug) dos lotes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong armazenadas em câmara fria.

O coeficiente de uniformidade de germinação indica o quanto a germinação das sementes de um lote está sincronizada entre si em relação ao tempo. Maiores valores deste coeficiente implicam dizer que a germinação do lote encontra-se mais distribuída no tempo (CARMONA et al., 1998; SANTANA e RANAL, 2000). Pôde-se observar que no lote com 9 anos, as sementes apresentaram o maior coeficiente de uniformidade de germinação (0,58%) (FIGURA 6B). A uniformidade em relação a este lote pode estar associada a dois fatores: vigor e viabilidade. Este lote apresentou um menor percentual de germinabilidade quando comparado com os lotes armazenados por 1 e 5 anos.

Desuniformidades na germinação também podem estar associadas às causas de dormência, ou à idade das sementes, como pode ser visto em relação às sementes armazenadas por 1 ano, em que estas apresentaram maior Cug, quando comparadas com as sementes armazenadas por 5 e 10 anos.

A germinação de tamboril, quando se considerou o percentual de sementes que originaram plântulas normais, iniciou-se no 8º dia do teste de germinação para os lotes armazenados por 1 e 5 anos (FIGURA 7), sendo ao final do teste semelhantes entre si e superiores aos demais, apresentando médias de 78% e 82% de germinação, respectivamente. Em relação aos lotes com 9 e 10 anos, observou-se valores com proporções similares entre eles, no entanto, superiores aos lotes de 7 e 6 anos, com médias de 38% e 52%, respectivamente.

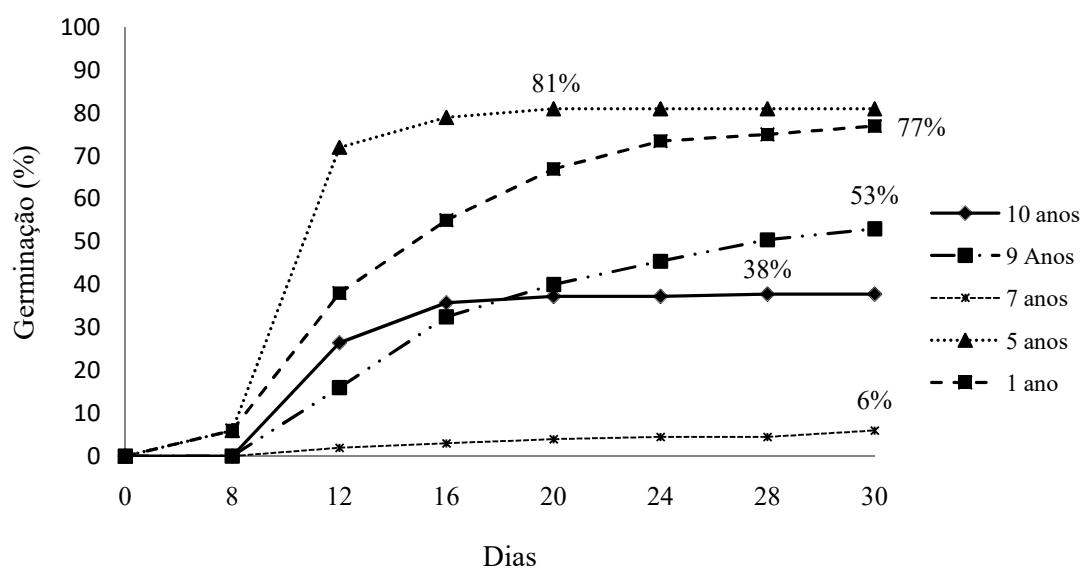


FIGURA 7. Germinação (%) acumulada dos diferentes lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong armazenados em câmara fria.

Em um estudo sobre a morfologia externa de plântulas de tamboril, percebeu-se que esta espécie atinge o estágio de germinação completa com 15 dias, quando as sementes são escarificadas mecanicamente (BARRETTO e FERREIRA, 2011). No entanto, para os lotes empregados neste trabalho, observou-se germinação a partir do 8º dia. Esta diferença valida a eficiência da escarificação química para superar a dormência desta espécie. Por outro lado, mediante os resultados obtidos neste trabalho, pode-se sugerir que esta contagem pode ser feita no 14º dia após a instalação do teste, pois é neste ponto que os lotes mais vigorosos atingem mais de 50% do total de sementes germinadas.

Tem sido recomendado para sementes de tamboril a realização da primeira contagem após 7 dias, no Manual de Instruções de Análises de Sementes de Espécies Florestais (BRASIL, 2013). No entanto, cabe salientar que leituras anteriores às sugeridas neste trabalho poderão levar a subestimativas quanto ao percentual de sementes viáveis, contaminação, pela abertura diária dos rolos de papel, ou gerboxes. Além disso, demandam horas de avaliação, que são valiosas em trabalhos de rotina. A segunda contagem, para finalização do teste, pode ser realizada ao 28º dia, uma vez que não há indícios de germinação após este período.

Em um trabalho em que foram estudados diferentes métodos de superação de dormência para *E. contortisiliquum* com menos de 1 ano de armazenamento, e considerando-se germinadas aquelas sementes que emergiram apenas os cotilédones acima do solo, obteve-se germinação de 79%, (FERREIRA et al., 2013), valor este aproximado ao obtido neste trabalho para o lote com 1 ano de armazenamento (78%).

Em *Erythrina velutina* Willd., também observou-se uma redução no potencial germinativo à medida que se prolongou o tempo de armazenamento (SANTOS et al., 2013). Logo, conclui-se que a perda da viabilidade de sementes é inevitável. No entanto, aprimoramentos na forma de armazenamento devem ser avaliados a depender das especificidades de cada lote e espécie.

Avaliando-se isoladamente o percentual de sementes deterioradas, observou-se que, o efeito da deterioração atingiu níveis mais elevados com o passar dos anos de armazenamento. Na avaliação desta variável deve-se considerar a qualidade inicial dos lotes que serão armazenados quanto à integridade física e fisiológica (FIGURA 8). Para este propósito os lotes submetidos ao armazenamento por 6 e 7 anos foram desconsiderados, uma vez que sua germinabilidade pode ter sido afetada negativamente por fatores, como o teor de água e incidência de microrganismos na execução do teste.

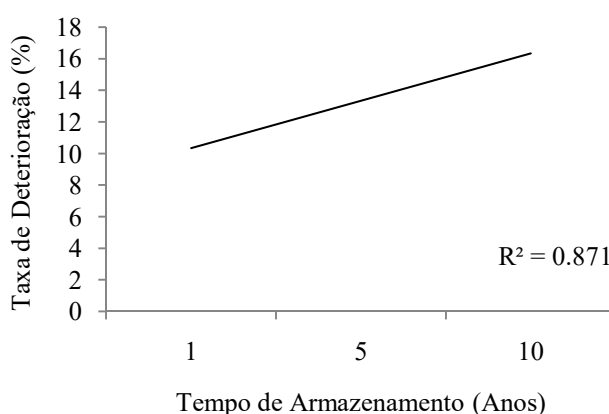


FIGURA 8. Taxa de deterioração de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong para 3 lotes de sementes armazenados em câmara fria.

A partir das avaliações do IVG comparando-se os diferentes lotes, observou-se que o lote com 5 anos de armazenamento apresentou maior vigor que os demais, seguido do lote com apenas um ano de armazenamento (FIGURA 9).

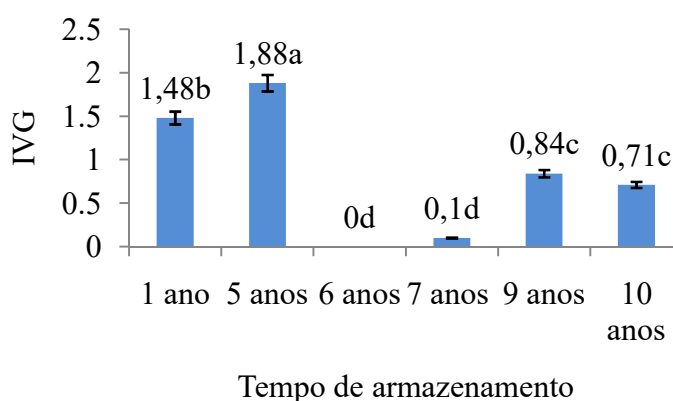


FIGURA 9. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, armazenadas em câmara fria.

Com o aumento do tempo de armazenamento constatou-se um decréscimo no vigor das sementes. Estes resultados corroboram com os destacados na literatura, os quais também ressaltam a diminuição do vigor em sementes mediante o aumento do período de armazenamento (BRAGA et al., 2007; GARCIA et al., 2014; ROCHA et al., 2017).

Outro aspecto a se considerar, é que cada um dos lotes apresenta especificidades, pois foram colhidos em regiões diferentes e de indivíduos diferentes. Isto também pode contribuir para estas variações, uma vez que cada lote pode ter sofrido influência de estresses bióticos e abióticos distintos.

4.3.4 Condutividade Elétrica

Com a determinação da condutividade elétrica dos lotes armazenados por 5, 6, 7 e 9 anos (referentes às sementes colhidas em 2012, 2011, 2010 e 2008) constatou-se que a interação entre os anos de colheita e as diferentes temperaturas utilizadas para a realização deste teste foi significativa (FIGURA 10).

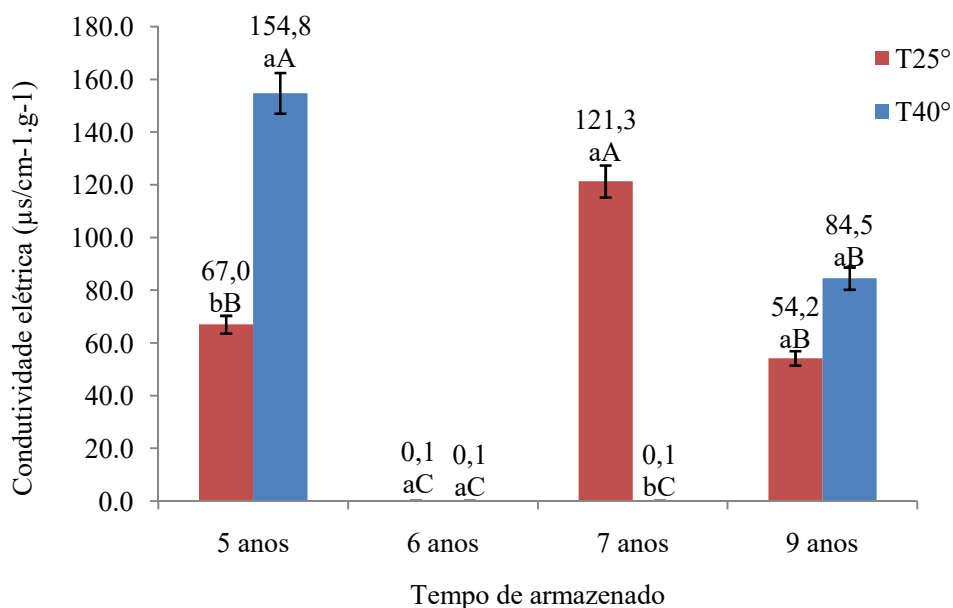


FIGURA 10. Condutividade elétrica (Ce) de lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong armazenados em câmara fria, submetidos a diferentes temperaturas de avaliação (25 e 40°C).

Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna (entre os tratamentos) e maiúscula na linha (entre os lotes), não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os lote que ficaram armazenado por 5 e 7 anos apresentaram diferença significativa em relação às diferentes temperaturas de exposição no teste de condutividade. Para o lote armazenado por 5 anos observou-se maior lixiviação a 40°C (154,8 $\mu\text{s}/\text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$). O contrário aconteceu para o lote com 7 anos de armazenamento, no qual a maior condutividade elétrica foi obtida a temperatura de 25°C. Ao se observar os lotes com 6 e 9 anos de armazenamento, constatou-se que estes não diferiram em relação as duas temperaturas usadas.

Ao se analisarem as temperaturas para cada lote avaliado, nota-se que, para a temperatura de 25°C, o lote com 7 anos apresentou maior quantidade de eletrólitos na solução quando comparado com os demais (121,3 $\mu\text{s}/\text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$), corroborando os resultados obtidos no teste de germinação. As sementes armazenadas por 5 e 9 anos, não apresentaram diferença estatística entre si para esta temperatura, o que permite inferir que as sementes de tamboril apresentam uma boa condição das membranas, mesmo armazenadas por 9 anos. O lote mantido armazenado por 6 anos apresentou a menor média em relação aos demais tratamentos para esta temperatura.

Para a temperatura de 40°C, observou-se que as sementes armazenadas por 5 anos destacaram-se com a maior média. As sementes de tamboril armazenadas por 9 anos foram inferiores ao lote com 5 anos e superiores aos lotes com 6 e 7 anos de armazenamento

(referente às sementes colhidas em 2011 e 2010). Para estes últimos dois lotes, houve uma quantidade de eletrólitos lixiviados pelas sementes na solução.

É importante ressaltar que o uso da variação na temperatura no teste de condutividade é pertinente, principalmente quando se tem pouca variação entre os lotes. Temperaturas altas em testes de Ce proporcionam o aumento da quantidade e da velocidade de liberação de eletrólitos lixiviados pela semente (RIBEIRO et al, 2009) e a lixiviação avaliada pelo teste com o uso de altas temperaturas poderá favorecer a uma melhor discriminação entre os lotes e ainda funcionar como avaliação do vigor.

A determinação da condutividade elétrica se faz importante devido a sua rapidez de gerar informações indiretas sobre o vigor de diferentes lotes de sementes, diante de alterações bioquímicas ocorridas no interior delas. Uma dessas alterações é a perda ou redução da sua seletividade da membrana, permitindo uma maior liberação de solutos, mais conhecidos como lixiviados, quando as sementes são submetidas à embebição (GOMES, 2013). Ao avaliar a qualidade fisiológica de sementes florestais constatou-se correlação positiva do teste de germinação com a condutividade elétrica, sendo este indicado como alternativa para uma rápida avaliação da qualidade fisiológica de sementes (GUOLLO et al., 2017). No entanto, em sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze este método não foi eficiente para detectar diferenças de vigor entre as sementes armazenadas em diferentes locais, pois este não conseguiu detectar graus intermediários de deterioração (GARCIA et al., 2014). Estes estudos não empregaram temperaturas acima de 25°C na condutividade, o que talvez permitisse a discriminação entre os lotes.

O lote armazenado por 6 anos apresentou a maior quantidade de sementes deterioradas no teste de germinação (100%), porém uma menor quantidade de lixiviados durante o teste de condutividade elétrica. De forma geral, é de se esperar que sementes envelhecidas e deterioradas apresentem maior lixiviação neste teste. No entanto, existem relatos na literatura e comprovações acerca de sementes mortas que apresentam redução ou nenhuma lixiviação de eletrólitos (HIBBARD e MILLER., 1928). Outro fator que pode acarretar em baixa lixiviação de eletrólitos no teste de condutividade elétrica é a infecção de sementes por fungos, pois em sementes de *Coffea arabica* L. as sementes mortas e infectadas por estes micro-organismos apresentaram baixos valores de condutividade (COSTA e CARVALHO, 2006).

As sementes utilizadas para a realização deste trabalho encontravam-se armazenadas em embalagens plásticas impermeáveis e conservadas em câmara fria com umidade e temperatura controladas (6°C à 9°C e 60 à 55% de UR). Sementes de tamboril também armazenadas em câmara fria mantiveram-se viáveis por até 9 anos com um percentual de 50% de germinação (SCALON et al., 2005), resultado pouco inferior ao observado neste trabalho, em que sementes com o mesmo tempo de armazenamento, apresentaram 76% de emissão de radícula e 52% de formação de plântulas normais.

O ambiente utilizado para armazenar as sementes de tamboril consiste em uma estratégia de conservação, uma vez que em temperatura ambiente estas tendem a perder o vigor de maneira acentuada quando comparadas com as armazenadas em locais com temperatura e umidade controladas, como geladeiras, câmara frias úmidas e secas (MOROZESK et al., 2014; LIMA et al., 2014; PARAGINSKI et al., 2014; ZUCARELI et al., 2015; NERY et al., 2016).

No entanto, essa conservação não ocorreu da maneira esperada para o lote armazenado por 6 anos. Os resultados negativos obtidos com os testes de vigor e viabilidade devem estar relacionados ao alto teor de água em suas sementes (acima de 15%), que podem manter o metabolismo da semente ativo, aumentar a respiração, acentuar os efeitos da deterioração e da ação de micro-organismos e, assim, provocar a morte da sementes. Para sementes desta espécie é recomendado um armazenamento com o teor de água próximo de 8% (WIELEWICKI et al., 2006). Neste trabalho, observou-se que as sementes com teor de água próximo a 12% também demonstraram germinabilidade, mesmo após períodos de 9 e 10 anos

de armazenamento. Um armazenamento inadequado pode levar a semente ao seu envelhecimento precoce e posterior morte. Considerando-se os resultados obtidos neste trabalho, recomenda-se o armazenamento de sementes de tamboril sob condições de câmara fria com a utilização de embalagens impermeáveis e teor de água entre 4 e 6%.

4.3.5 Teste de Raios-X

A exposição de sementes ao teste de raios-X foi eficiente para análise do estudo da morfologia interna das sementes de tamboril, sendo possível a avaliação e classificação das mesmas em categorias denominadas: sementes cheias (bem formadas), com danos (decorrentes de insetos ou mecânicos), mal formadas, translúcidas e vazias (FIGURA 11).

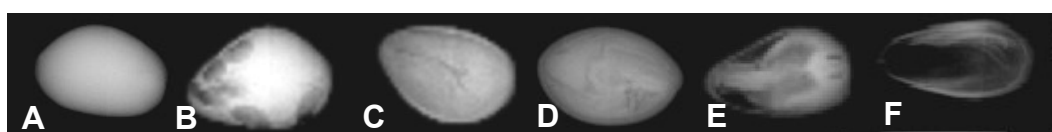


FIGURA 11. Sementes de diferentes lotes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong categorizadas, por meio de radiografias. A – cheias; B e C - com danos; D - translúcidas, E - mal formadas e F - vazias.

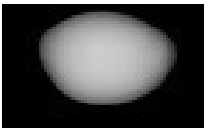
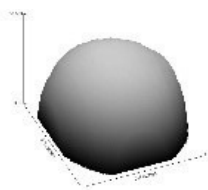
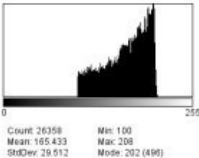


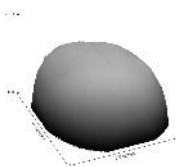
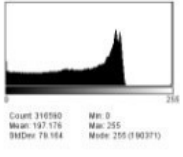
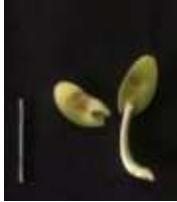

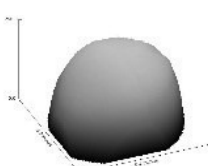
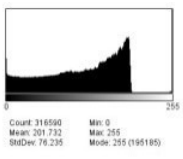
Para todos os lotes, a maioria das sementes foi classificada como cheias (variando entre 66 a 90%), seguidas das sementes com danos (2,85 a 14,5%), sementes mal formadas (3 a 13,5%) e vazias (0 a 1%) (Tabela 3). As sementes vazias foram observadas apenas nos lotes armazenados por 7 e 9 anos.

TABELA 3. Categorias de sementes de *Enterolobium contotilisilium* (Vell.) Morong obtidas por meio de raios-X, de lotes armazenados em câmara fria, em comparação com o teste de germinação. PN – Plântulas normais; PA – Plântulas anormais; D – sementes deterioradas.

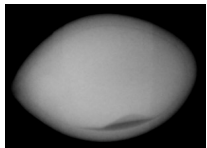
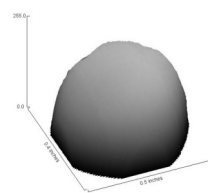
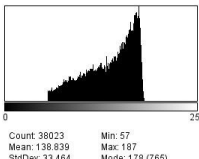

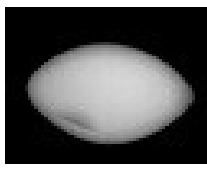
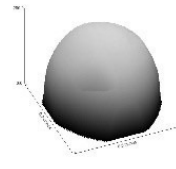
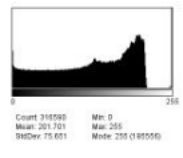
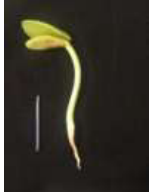

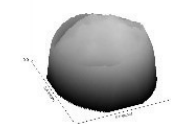
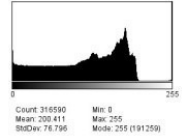
Tempo de armazenamento	Categoria	Total (%)	Germinação		
			PN%	PA%	D%
1 ano	Com danos	4	3	0,5	0,5
	Mal formadas	3	2,5	0,5	0
	Cheias	90	67,5	12,5	9,5
	Translúcidas	3	2,5	0	0,5
	Vazias	0	0	0	0
5 anos	Com danos	7,5	6,5	1	0
	Mal formadas	7,5	6	0,5	1
	Cheias	79,5	62,5	7	10
	Translúcidas	5,5	5	0,5	0
	Vazias	0	0	0	0
6 anos	Com danos	14,5	0	0	14,5
	Mal formadas	9	0	0	9
	Cheias	74,5	0	0	74,5
	Translúcidas	2	0	0	2
	Vazias	0	0	0	0
7 anos	Com danos	13,5	0	1,5	12
	Mal formadas	8,5	0	0	8,5
	Cheias	66	5	16	45
	Translúcidas	11	0,5	0	10,5
	Vazias	1	0	0	1
9 anos	Com danos	2,85	0,57	0	2,28
	Mal formadas	13,7	0,5	0	13,2
	Cheias	73,14	50,86	16,57	5,14
	Translúcidas	9,71	1,14	2,28	6,28
	Vazias	0,57	0	0	0,57
10 anos	Com danos	3,63	0	1	2,6
	Mal formadas	4,15	0,52	1,04	2,6
	Cheias	89,12	35,25	41,45	11,92
	Translúcidas	3,10	1,55	1,55	0
	Vazias	0	0	0	0

Para o lote armazenado por 1 ano, verificou-se que, do total de sementes cheias (90%), apenas 67,5% formaram plântulas normais, 12,5% originaram plântulas anormais e 1% deteriorou-se. Para o lote com 5 anos, 79% das sementes foram classificadas como cheias e apenas 62,5% originaram plântulas normais. Os lotes armazenados por 9 e 10 anos apresentaram valores de formação de plântulas normais de 44,5% e 38%, do total de sementes classificadas nesta categoria. Observou-se que, exceto as sementes vazias, as sementes incluídas nas demais categorias formaram plântulas normais e anormais e apresentaram sementes deterioradas (QUADROS 1, 2, 3 e 4).

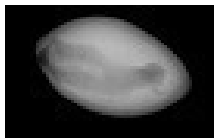
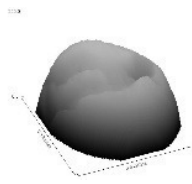
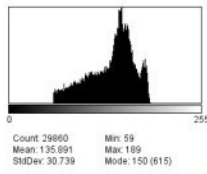
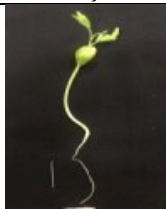
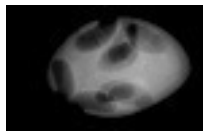
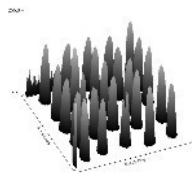
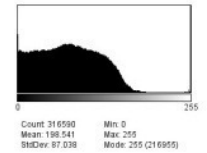

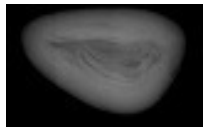
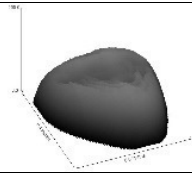
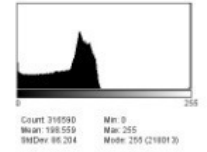
QUADRO 1. Sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong classificadas como cheias, obtidas no teste de raios-X e analisadas através do softwer ImageJ.

Categoria	Radiografia	Gráfico 3D	Histograma Pixels	Germinação
Cheias			 Count: 26358 Mean: 165.433 StdDev: 28.912 Min: 100 Max: 255 Mode: 202 (496)	 Normal
			 Count: 316980 Mean: 137.176 StdDev: 78.164 Min: 0 Max: 255 Mode: 255 (180371)	 Anormal
			 Count: 316590 Mean: 201.732 StdDev: 76.235 Min: 0 Max: 255 Mode: 255 (195185)	Deteriorada

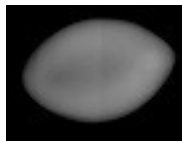
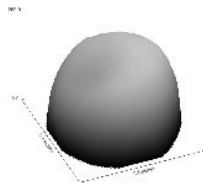
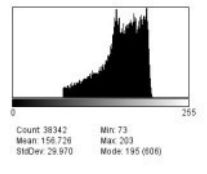
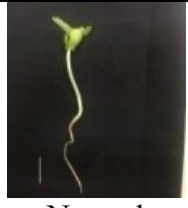
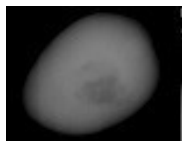
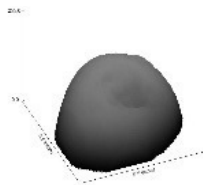
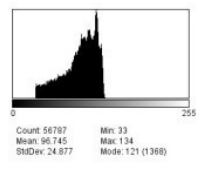


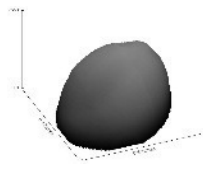
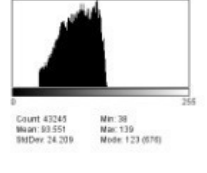
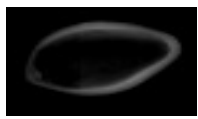
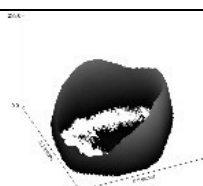
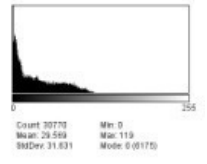
QUADRO 2. Sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong classificadas como mal formadas, obtidas no teste de raios-X e analisadas através do softwer ImageJ.

Categoria	Radiografia	Gráfico 3D	Histograma Pixels	Germinação
Mal formadas			 Count: 38023 Mean: 136.839 StdDev: 33.464 Min: 57 Max: 187 Mode: 178 (765)	 Normal
			 Count: 316590 Mean: 261.701 StdDev: 73.601 Min: 0 Max: 255 Mode: 255 (185585)	 Anormal
			 Count: 316590 Mean: 200.411 StdDev: 76.796 Min: 0 Max: 255 Mode: 255 (191259)	Deteriorada

QUADRO 3. Sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong classificadas em sementes com danos cheias, obtidas no teste de raios-X e analisadas através do softwer ImageJ.

Categoria	Radiografia	Gráfico 3D	Histograma Pixels	Germinação
Com danos			 Count: 29860 Mean: 135.691 StdDev: 30.739 Min: 59 Max: 199 Mode: 150 (615)	 Normal
			 Count: 316590 Mean: 198.541 StdDev: 87.038 Min: 0 Max: 255 Mode: 255 (216955)	 Anormal
			 Count: 316590 Mean: 198.541 StdDev: 87.038 Min: 0 Max: 255 Mode: 255 (216955)	Morta

QUADRO 4. Sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong classificadas como translúcidas e vazias, obtidas no teste de raios-X e analisadas através do softwer ImageJ.

Categoria	Radiografia	Gráfico 3D	Histograma Pixels	Germinação
Translúcidas			 Count: 38342 Mean: 156.726 StdDev: 29.870 Min: 73 Max: 203 Mode: 195 (606)	 Normal
			 Count: 56787 Mean: 96.745 StdDev: 24.877 Min: 33 Max: 134 Mode: 121 (1366)	 Anormal
			 Count: 43245 Mean: 93.551 StdDev: 24.299 Min: 38 Max: 139 Mode: 123 (616)	Deteriorada
Vazias			 Count: 30770 Mean: 29.589 StdDev: 31.831 Min: 0 Max: 119 Mode: 6 (6175)	Deteriorada

Ao verificar os histogramas gerados através do programa ImageJ, observou-se que as sementes que originaram plântulas normais, anormais e as que se deterioraram demonstraram um padrão de pixel diferente entre elas. As sementes que originaram plântulas normais e anormais apresentaram um mínimo de 80 e 50 pixels, respectivamente, e a formação do histograma não se iniciou próximo ao eixo 0. A inferência observada a partir do histograma de pixels para as sementes que deterioraram foi que este, diferente dos demais citados, iniciou-se no ponto 0 do eixo, ou seja, apresentou uma densidade de pixel mínima igual a 0.

O teste de raios-X proporciona a visualização da morfologia interna de sementes, na qual se faz possível a detecção, de maneira não destrutível, de sementes bem formadas, com danos no tecido de reserva e injúria causada por insetos. Entretanto, por meio desta técnica não se consegue detectar problemas fisiológicos ligados ao processo de deterioração, por isso deve ser associado a testes de germinação e vigor para se obter resultados mais exatos (SILVA et al., 2014c).

Apesar das análises das radiografias das sementes mostrarem uma alta porcentagem de sementes bem formadas (cheias) com potencial de originar plântulas normais, na germinação não se observou uma correspondência exata.

Em estudos feitos com mamona (*Ricinus communis* L.) e pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) observaram-se resultados semelhantes, e constatou-se que as sementes classificadas como cheias e sem danos resultaram em sementes deterioradas, plântulas anormais ou sementes duras (não germinadas) (PINTO et al., 2009, KOBORI et al., 2012). As imagens obtidas a partir destas análises visam indicar se há ou não tecidos formados ou danificados, mas são incapazes de estabelecer relação direta com os processos fisiológicos da semente (GOMES, 2013).

Baseado nisto, justificam-se os resultados obtidos para os lotes com seis e sete anos de armazenamento, em que o nível de deterioração das sementes foi superior a todos os outros lotes, mesmo obtendo-se um alto número de sementes cheias. Constatou-se que o lote com 6 anos de armazenamento apresentou 74,5% de suas sementes bem formadas (cheias) e não obteve germinação. Para o lote com 7 anos de armazenamento obteve-se 66% de suas sementes classificadas nesta categoria, sendo que apenas 15% apresentaram germinação completa.

Salienta-se, ainda que esses lotes apresentaram altos teores de água quando comparados aos lotes mais vigorosos e isto pode ter sido a causa da inexatidão dos resultados obtidos pelo raio-X em relação à germinação, pois o teor de água em sementes influencia na qualidade da imagem (SILVA et al., 2014c),

A diferença entre estes resultados não implica na ineficiência do teste de raios-X, pois esta ferramenta de análise física de sementes possibilita estabelecer inferências acerca da morfologia interna das mesmas. Esta ferramenta pode servir de auxílio para detectar sementes possivelmente cheias, defeituosas ou vazias, proporcionando maximizar a qualidade dos lotes, tanto para uso imediato quanto para o armazenamento, melhorando os resultados no processo de germinação e produção de mudas (GOMES, 2013).

Foi observada germinação de sementes classificadas com danos e malformação para os lotes com 1, 5, 9 e 10 anos de armazenamento (2016, 2012, 2008 e 2007, respectivamente). Para os demais lotes, não foi evidenciado surgimento de plântulas. Os danos ou malformação em sementes de tamboril não são totalmente letais a elas, e irá depender da proporção em que os mesmos ocorrem.

A severidade e a localização do dano é o que determina se as sementes apresentam capacidade de germinação. Ao avaliarem a qualidade fisiológica de sementes de espécies florestais de Lauraceae, por meio do teste de raios-X, observaram que danos próximos ao embrião, sendo eles ocasionados ou não por insetos ou má formação, culminaram na morte da semente (CARVALHO et al. 2009).

Na Tabela 4 representa-se uma análise sobre a densidade de pixels das sementes de tamboril. Essas densidades foram classificadas de modo que se obteve uma média para:

densidade dos lotes (DMPIX), densidade de sementes que originaram plântulas normais (DPSPN), densidade de sementes que originaram plântulas anormais (DPSPA) e densidade de sementes que se deterioraram (DPSD).

TABELA 4. Densidade média de pixels de lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, obtidas a partir do softwer ImageJ. Densidade média de pixel geral do lote (D.M.PIX); Densidade média de pixel de sementes de lote - plântulas normais (D.M.P.PN); Densidade média em pixel de sementes - plântulas anormais (D.M.P.PA); Densidade média de pixel de sementes - deterioraram (D.M.P.D); D.P – Desvio Padrão.

Tempo (anos)	Raios X							
	D.M.PIX	D. P.	D.P.S.PN	D.P	D.P.S.PA	D. P.	D.P.S.D	D.P
1	177aA	12	177aA	11	139bA	11	135bB	19
5	181aA	18	202aA	17	177aA	17	200aA	22
6	153aB	16	-	-	-	-	153aB	17
7	150aB	48	114aB	0	153aA	0	149aB	48
9	122aB	60	127aB	22	128aA	76	109aB	23
10	131aB	18	132aB	18	132aA	87	125aB	74
CV%	25,79		30,80		43,07		29,81	

Médias obtidas através do programa SISVAR. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Apenas as sementes armazenadas por 1 e 6 anos apresentaram diferença significativa entre as variáveis de densidade de pixels. Para o lote com 1 ano de armazenamento, dentre os quatro tipos de densidade analisadas, percebeu-se que a densidade média geral do lote (D.M.PIX) não diferiu estatisticamente da densidade de sementes que originaram plântulas normais (D.P.S.PN). No entanto, estas duas últimas diferem estatisticamente, sendo superiores à densidade de sementes que originaram plântulas anormais (D.P.S.PA) e sementes deterioradas (D.P.S.D). É provável que essa diferença observada para os dois primeiros lotes tenha relação com o teor de água das sementes, pois este influencia na determinação exata da densidade de pixels, uma vez que dificulta a penetração dos raios.

O lote com 6 anos de armazenamento apresentou densidade média de pixels do lote e densidade de pixels de sementes que deterioraram iguais e superiores às densidades de pixels de sementes que formaram plântulas normais e plântulas anormais. Estas duas últimas apresentaram valores iguais a zero, o que é normal, pois segundo o teste de germinação, nenhuma semente deste lote germinou ou formou plântulas anormais. Os demais lotes não apresentaram diferença significativa em relação ao desdobramento do tratamento dentro de cada nível de densidade avaliada.

Ao avaliar a interação de cada variável de densidade dentro de cada lote e a germinabilidade dos mesmos, é possível inferir que quanto maior a densidade de pixels geral do lote maior a probabilidade da semente germinar. Assim, existe uma tendência em se obter sucesso com sementes com qualidade física e fisiológica no lote, uma vez que a densidade de pixel, ou óptica, está relacionada com a concentração do tecido de reserva da semente. Diante disto, pode-se perceber que para as variáveis de densidade média de pixels do lote e densidade de pixels de sementes que formaram plântulas normais, os lotes com 1 e 5 anos de armazenamento foram superiores aos demais. Estes lotes também foram superiores aos demais no teste de germinação (TABELA 5), onde também apresentaram médias semelhantes entre si para todas as variáveis. Em relação à variável densidade de pixels de sementes que formaram plântulas normais, os lotes com 7, 9 e 10 anos de idade obtiveram médias

semelhantes entre si, mas inferiores aos lotes com 1 e 5 anos. O lote com 6 anos de armazenamento, para esta variável foi inferior aos demais (germinação = 0%).

TABELA 5. Relação entre idade e a densidade média de pixels geral dos lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, expostas ao teste de raios-X, com dados obtidos a partir das mesmas sementes pelo teste de germinação. D.M.PIX – Densidade média de pixels do lote; %G – porcentagem de germinação; IVG – índice de velocidade de germinação; PF- peso fresco.

IDADE (anos)	D.M.PIX	%G	IVG	PF(g)
1	177a	76a	1,47b	0,69a
5	181a	80a	1,87 ^a	0,60a
6	153b	0,00d	0,00d	0,00b
7	150b	5c	0,12d	0,53a
9	122b	46b	0,83c	0,61a
10	131b	38b	0,72c	0,47a
CV%	25,84	21,60	6,77	6,35

Médias obtidas através do programa SISVAR. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott- Knott a 5% de probabilidade.

Para a variável densidade de pixels de sementes que formaram plântulas anormais, apenas o lote com 6 anos de armazenamento se comportou de maneira inferior ao demais, apresentando nulidade. Isto pode ser explicado, devido ao fato de nenhuma semente ter emitido radícula ou ter originado plântulas anormais. Os demais lotes não apresentaram diferença significativa entre si.

Para densidade de pixels de sementes que deterioraram, constatou-se que as sementes armazenadas por 5 anos apresentaram média superior aos demais (199,89 pixels). No entanto, isso não permite inferir que sementes com densidade inferior a essa são passíveis de deterioração. A densidade em sementes está relacionada ao teor de matéria seca.

Se levarmos em consideração os valores de densidade obtidos a partir da análise de imagens dos raios-X e correlacioná-los com o teste de germinação, é possível inferir que os lotes que apresentaram maior vigor e maior germinação (emergência de radícula e formação de plântulas normais) foram os que apresentaram maiores valores de densidade de pixels. Sendo assim, é possível afirmar que as sementes referentes aos lotes com 1 e 5 anos de armazenamento apresentaram melhor qualidade fisiológica.

Com base nisso, em relação aos diferentes lotes, pode-se dizer que a densidade de pixels obtida pela média do lote pode ser útil como mais uma ferramenta para a determinação da qualidade fisiológica entre lotes de sementes de tamboril.

4.3.4 Integridade e qualidade do RNA

O teor total de RNA e DNA diminuem com a redução no vigor das sementes e o DNA danificado de sementes com alto vigor se recupera rapidamente, quando comparadas com sementes de baixo vigor. Em sementes de *Zea mays* L. com diferentes gradientes de vigor expostas ao envelhecimento artificial, observou-se que o teor de proteínas foi diminuído em embriões com baixo vigor, quando comparado com os de sementes com alto vigor (LIU et al., 1999).

A integridade do RNA pode ser avaliada por meio de técnicas como a extração e posterior avaliação da quantidade, pureza e integridade molecular. Para os lotes de tamboril

estudados observou-se que com o aumento do armazenamento houve uma diminuição na qualidade e integridade (FIGURA 10).

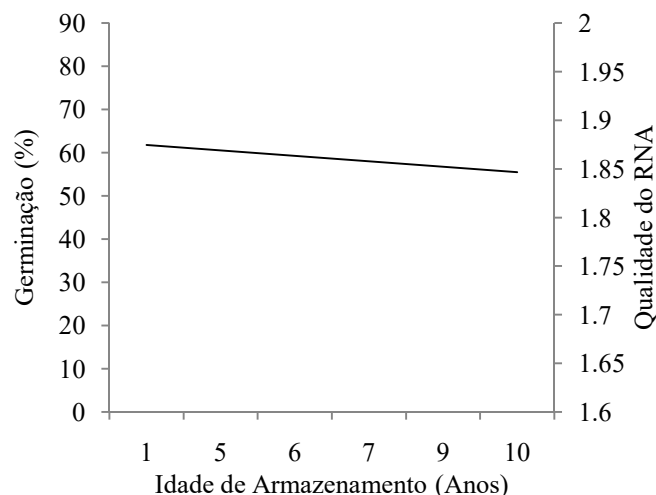


FIGURA 12. Qualidade do RNA dos diferentes lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong armazenados em câmara fria.

Ao se avaliar a integridade do RNA, por meio de corrida eletroforética em gel de poliacrilamida a 1%, pode-se confirmar que sementes com baixo vigor e reduções na germinação têm alterações em nível de ácidos nucleicos. Observou-se uma falta de integridade do RNA (canaleta 4) para o lote que apresentou maior deterioração (2011 – 6 anos de armazenamento), diferindo dos demais lotes (FIGURA 11).

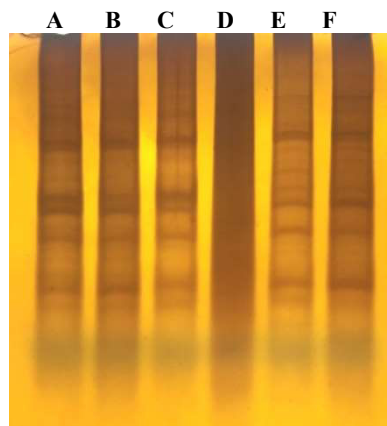


FIGURA 13. Perfil eletroforético de RNA em gel de poliacrilamida de embriões dos lotes de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell) Morong armazenados em câmara fria. A - 10 anos; B - 9 anos; C - 7 anos; D - 6 anos; E - 5 anos e F - 1 ano.

A capacidade das sementes permanecerem armazenadas está relacionada à integridade e degradação de proteínas e, consequentemente, ao vigor das sementes. As células vegetais apresentam mecanismos de auto-recuperação, até determinado limite, e esta recuperação envolve a ativação da síntese de reparo, incluindo as membranas, enzimas, DNA e RNA. Durante a embebição, as sementes têm potencial para restaurar membranas (FU et al., 2000), e esta restauração está diretamente relacionada à integridade de RNAs.

Diante do exposto, as ferramentas empregadas para se avaliar a qualidade física e fisiológica de sementes de tamboril se complementam para justificar o comportamento diferencial dos lotes no armazenamento.

4.4 Conclusões

É possível armazenar sementes de tamboril por períodos de até 10 anos, sob condições de armazenamento em câmaras frias.

Sementes de tamboril podem ser armazenadas por 5 anos sem que haja redução da viabilidade e do vigor. Quando armazenadas em períodos maiores que 5 anos, a qualidade fisiológica das sementes sofre alterações, resultando na redução da viabilidade e do vigor.

As sementes desta espécie mostraram um potencial germinativo de 88% de emissão de radícula e 38% formação de plântulas normais após dez anos de armazenamento, porém salienta-se que para a conservação de sementes ortodoxas o recomendado em banco de germoplasma é que a porcentagem de germinação não seja inferior a 60%. Caso isso ocorra, é recomendado a reposição do lote para fins de conservação.

A obtenção de sementes de espécies nativas tem sido cada vez mais difícil, uma vez que se observa uma intermitência na produção, principalmente devido às mudanças climáticas. Neste aspecto, o descarte de sementes, mesmo com viabilidade inferior a 60%, poderá implicar em perdas de recursos genéticos que podem ser utilizados na produção de mudas, ou na recuperação/restauração de áreas degradadas.

4.6 Referências Bibliográficas

- ABRÀMOFF, M. D.; MAGALHÃES, P. J.; RAM, S. J. Image processing with ImageJ. **Biophotonics international**, v.11, n.7, p.36-42, 2004.
- ALEXANDRE, R. S. et al. Tratamentos físicos e químicos na superação de dormência em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences**, v.4, n.2, p.156–159, 2009.
- AMARO, H. T. R. et al. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v.38, n.3, p.383–389, 2015.
- ARAÚJO, A. P. de; SOBRINHO, S. D. P. Germinação e produção de mudas de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* (VELL.) Morong) em diferentes substratos. **Revista Árvore**, v.35, n.3, p.581–588, 2011.
- ARAÚJO, A. V. de et al. Determinação do teor de água em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. **Anais...in: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO**, 13. - UFRPE p. 63–65, 2013.
- ATAÍDE, G. M. et al. O. Avaliação preliminar da embebição de sementes de jacarandá-da-bahia. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.34, n.78, p.133-139, 2014.
- BARRETTO, S. S. B.; FERREIRA, R. A. Aspectos morfológicos de frutos, sementes plântulas e mudas de Leguminosae Mimosoideae: *Anadenanthera colubrina* (Vellozo Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vellozo) Morong. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.2, p.223 – 232, 2011.
- BRAGA, L. D. L. et al. Germinação de sementes de *Plathymenia reticulata* Benth. (Fabaceae-Mimosoideae) sob influência do tempo de armazenamento. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, n.2, p.258–260, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS. 2009. 399p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária/Coordenação Geral de Apoio Laboratorial. Brasília, DF: Mapa/SDA/CGAL. 2013. 97p.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press. 1994. 445p.
- BEWLEY, J. D. et al. **Seeds – physiology of development, germination and dormancy**. Springer: New York, ed. 3. 2013. 392p.
- CARMONA, R.; MARTINS, C. R.; FÁVERO, A. P. Fatores que afetam a germinação de sementes de gramíneas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 1, p. 16-22, 1998.
- CARVALHO, L. R. de; CARVALHO, M. L. M. de; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de espécies florestais de Lauraceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.4, p.57–66, 2009.

COSTA, P. S. C.; CARVALHO, M. L. M. Teste de condutividade elétrica individual na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e agrotecnologia**, v. 30, n. 1, p. 92-96, 2006.

COSTA, P. A. et al. Quebra de dormência em sementes de *Adenanthera pavonina* L. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.40, n.1, 2010.

DEBEAUJON, I.; LÉON-KLOOSTERZIEL, K. M.; KOORNNEEF, M. Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in Arabidopsis. **Plant physiology**, v. 122, n. 2, p. 403-414, 2000.

EIRA, M. T. S.; FREITAS, R. W. A.; MELLO, C. M. C. Superação de dormência de sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. - Leguminosae. **Revista Brasileira de Sementes, Londrina - PR**, v.15, n.2, p.177-181, 1993

FAO/IPGRI. **Genebank standards**. Food and Agriculture Organization of the United Nations and International Plant Genetic Resources Institute, Rome, 1994. 13p

CRUZ-SILVA, C. T. A.; ROSA, A. P. M. Tratamentos para superação da dormência em sementes de orelha-de-negro [*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong.]. **Scientia Agrárias**, v.2, n.2, p.79-90, 2011.

EMDAGRO - Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe Informações Básicas Municipais - Município de Lagarto. Estado de Sergipe. 2008. 31p.

EMDAGRO - Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe. Informações Básicas Municipais - Município de Nossa Senhora do Socorro. Estado de Sergipe. 2009. 19p.

FARIA, R. Q. de et al. Physiological quality of crambe seeds submitted to drying. **Revista Ciências Agrônômica.**, v. 45, n.3, p.453-460, 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, C. et al. Métodos para superar dormência em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (vell.) Morong. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v.10, n.1, 2013.

DE FREITAS, M. J. L. et al. Influencia de dois métodos de superação de dormência na germinação de canafístula (*Peltophorum dubium* taubert). **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v.7, n.4, 2016.

FONTES, A. L. **Zoneamento geoambiental da bacia do rio Japaratuba**. In: FRANÇA, V. L. A. (Org.). Capítulos de Geografia Nordeste. 1ª edição. Aracaju: NPGeo-UFS, v. 1, 1998. p.220-245.

FU, H.; SUBRAMANIAN, R. R.; MASTERS, S. C. 14-3-3 proteins: structure, function, and regulation. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v.40, n.1, p.617-647, 2000.

GARCIA, C. et al. Conservação da viabilidade e vigor de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze durante o armazenamento. **Ciencia Florestal**, v.24, n.4, p.857-866, 2014.

GOMES, K. B. P. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Terminalia argentea* Mart. et Zucc. pelos testes de raios x, condutividade elétrica, ph do exsudato e germinação.** Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais), Universidade de Brasília, 73f., 2013.

GUOLLO, K. et al. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes florestais através do teste de condutividade elétrica. **Colloquium Agrariae**, v.13, n.1, p.86–92, 2017.

HIBBARD, R. P.; MILLER, E. V. Biochemical studies on seed viability: I. Measurements of conductance and reduction. **Plant physiology**, v.3, n.3, p.335, 1928.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Diagnóstico Florestal de Sergipe.** Brasília, DF, FUNATURE. 1999. 67p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais. **Estimativas da população residente com data de referência 1º de julho de 2017.**

KARRFALT, R. P. **Seed testing.** Chapter 5 In: Woody Plants Seed Manual URL. Dry Branch (GA): USDA Forest Service, National Seed Laboratory. 2004. 24p.

KOBORI, N. M.; CICERO, S. M.; MEDINA, P. F. Teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.1, p.125-133, 2012.

KONG, L.; HUO, H.; MAO, P. Antioxidant response and related gene expression in aged oat seed. **Frontiers in plant science**, v.6, p.1-9, 2015.
doi:10.3389/fpls.2015.00158).

KOTTEK, M. et al. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift**, v.15, n.3, p.259-263, 2006.
doi: 10.1127/0941-2948/2006/0130.

LIMA JUNIOR, M.J.V. **Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais.** UFAM: Manaus, 146p., 2010.

LIMA, D. C. et al. Storage of sunflower seeds. **Revista Ciencia Agronomica**, v.45, n.2, p.361–369, 2014.

LIU, L.; WHITE, M. J.; MACRAE, T. H. Transcription factors and their genes in higher plants. **The FEBS Journal**, v.262, n.2, p.247-257, 1999.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual da Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, v. 1, 2002. 368p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigour. **Crop Science**. Madison, v.2, n.1, 176-177p., 1962.

MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Dormancy Breaking and Germination of *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong seed. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.6, p.851-854, 2004.

MAUÉS, M. M.; DE OLIVEIRA, P. E. A. M. Consequências da fragmentação do habitat na ecologia reprodutiva de espécies arbóreas em florestas tropicais, com ênfase na Amazônia. **Oecologia Australis**, v.14, n.1, p.238–250, 2010.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ. 2015. 660p.

MEIO AMBIENTE EM FOCO. Município de Capela – Sergipe. 2009. Disponível em: <<http://www.espacoambiental.blogspot.com.br/2009/01/municipio-de-capela-sergipe.html>> Acessado em 08/02/2018.

MOROZESK, M. et al. Longevidade de sementes nativas da Floresta Atlântica. **Natureza online**, v.12, n.4, p.185-194, 2014.

NASCIMENTO, R. F.; GAVRON, A. B.; BOWLES, S. Comparação entre diferentes métodos para determinação de umidade em grãos de feijão preto. **Revista Analytica**. n. 15, n. 86, p. 16-18, 2017.

NERY, F. C. et al. Storage of *Calophyllum brasiliense* cambess. seeds. **Brazilian Journal of Biology**, v.77, n.3, p.431–436, 2016.

PARAGINSKI, R. T. et al. Propriedades tecnológicas e de cocção em grãos de arroz condicionados em diferentes temperaturas antes da parboilização. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.17, n.2, p.146, 2014.

PARRELLA, N. N. L. D. **Caracterização genética e da qualidade de sementes de mamona**. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 86f, 2009.

PESKE, S. T. et al. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. Pelotas: Ed. Universitária, 2003.

PINTO, T. L. F. et al. Avaliação da viabilidade de sementes de pinhão manso pelos teste de tetrazólio e de raios x. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.195-201, 2009.

PMA - Portal da Prefeitura Municipal de Aracaju. **Aspectos Geográficos**. 2017. Disponível em: <http://www.aracaju.se.gov.br/aracaju/aspectos_geograficos>. Acessado em 08/02/2018.

PML – Portal da Prefeitura Municipal de Lagarto. **Geografia**. 2017. Disponível em: <[://www.lagarto.se.gov.br/v2/a-cidade/geografia.html](http://www.lagarto.se.gov.br/v2/a-cidade/geografia.html)>. Acessado em 08/02/2018.

PMNSS. Prefeitura Municipal de Nossa Senhora do Socorro. 2017. Informações Geográficas. Disponível em: <<http://www.socorro.se.gov.br/informacoesGeograficas>>. Acessado em 08/02/2018.

RABBANI, A. R. C., et al. Pré-embebição em sementes de moringa. **Scientia Plena**, v.9, n.5, 2013.

RESENDE, O. et al. Modelagem matemática e difusividade efetiva das sementes de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) durante a secagem. **Engenharia Agrícola**, v.31, n.6, p.1123-1135, 2011.

RIBEIRO, D. M. et al. Teste de condutividade elétrica para avaliar o vigor de sementes em milho-pipoca (*Zea mays* L.). **Revista Ceres**, v. 56, n. 6, 2009.

ROCHA, G. C. et al. Qualidade fisiológica de sementes de soja tratadas e armazenadas. **Científic@-Multidisciplinary Journal**, v.4, n.1, p.50-65, 2017.

SANTANA, D. G. de; RANAL, M. A. Análise estatística na germinação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, n.4, p.205-237, 2000.

SANTONIERI, L.; BUSTAMANTE, P. G. Conservação ex situ e on farm de recursos genéticos: Desafios para promover sinergias e complementaridades. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi: Ciências Humanas**, v.11, n.3, p.677–690, 2016.

SANTOS, L. W. et al. Armazenamento e métodos para a superação da dormência de sementes de mulungu. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.1, p.171-178, 2013.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L. de; VILLELA, F. A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.110–119, 2004.

SANTOS, S. R. G.; PAULA, R. C. Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Bail.) Smith & Downs (branquilha) – Euphorbiaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.2, p.136-145, 2005.

SANTOS, G. S.; DOS SANTOS, T. A.; FONTES, I. S. S. Ocorrência de Casos de Sífilis no Município de Moita Bonita nos Anos de 2014 a 2016. In: **Congresso Internacional de Enfermagem**, v.1, n.1, p.4, 2017.

SERGIPE. Secretaria de Estado do Planejamento e da Ciência e Tecnologia - SEPLANTEC. Superintendência de Estudos e Pesquisas- SUPES. **Perfis Municipais**: Aracaju. 1997. 75p.

SERGIPE. Secretaria de Estado do Planejamento e da Ciência e tecnologia - SEPLANTEC. Superintendência De Estudos E Pesquisas - SUPES. **Informes Municipais**: Aracaju, 2000. 75p.

SCALON, S. P. Q. et al. Armazenamento, germinação de sementes e crescimento inicial de mudas de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. **Scientia Biologica**, v.27, n.2, p.107-112, 2005.

SCALON, S. P. Q. et al. Armazenamento e tratamentos pré- germinativos em sementes de jacarandá (*Jacaranda cuspidifolia* Mart.). **Revista Árvore**, v.30, n.2, p.179-85, 2006.

SILVA, J. R. O; ALBUQUERQUE, M.C.F; SILVA, I. C. O. Armazenamento de Sementes de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp.(FABACEAE) em Diferentes Embalagens e Ambientes. **Floresta e Ambiente**, v.21, n.4, p.457-467, 2014a.

SILVA, T. B. et al. Curva de embebição de sementes *Enterolobium contortisiliquum* (Vell) Morong (FABACEAE). In: Embrapa Semiárido-**Resumo em anais de congresso** (ALICE). Informativo ABRATES, Brasília, DF, v. 24, n. 3, p. 104, 2014b.

SILVA, P. P. et al. Análise de imagens no estudo morfológico e fisiológico de sementes de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.2, p.210–214, 2014c.

SOUZA, V. C. et al. Conservation of marizeiro *Geoffroea spinosa* Jacq. seeds using different packagings and environments. **Ciência Florestal**, v.21, n.1, p.93-102, 2011.

VECHIATO, M. H. **Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas.** Artigo em Hypertexto. 2010. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/qualidadesanitaria>. Acesso em: 05/01/2018.

WIELEWICKI, A. P. et al. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.191-197, 2006.

ZUCARELI, C. et al. Qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca armazenadas em diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.8, p.803–809, 2015.

ANEXOS I

TABELA 1. Resumo da análise de variância aplicada às variáveis avaliadas no teste de germinação em sementes de *Enterolobium cortortisiliquum* (Vell) Morong. E.R – Emissão de radícula; D – sementes deterioradas; P.N – plântulas normais; IVG – índice de velocidade de germinação; C.E- condutividade elétrica; P.F – peso fresco.

F.V.	Valores de F						
	E.R	D	P.N	P.A	IVG	C.E	P.F
Tratamento	422,388*	91,906*	149,110*	28,004*	79,460*	16,881*	15,892*
CV%	6,85	14,96	13,36	27,58	6,61	20,35	6,35

*Valor de F significativo a 5% de probabilidade.